

# Visión global de la célula e investigación celular

- Origen y evolución de las células 4
- Células como modelos experimentales 16
- Instrumentos de la biología celular 21
- EXPERIMENTO CLAVE:  
Cultivo celular animal 35
- MEDICINA MOLECULAR:  
Virus y cáncer 37

LA BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS CÉLULAS es un área de investigación activa cuyo entendimiento es fundamental para todas las ciencias biológicas. Esto es cierto no sólo desde el punto de partida de la ciencia básica, sino también respecto a un número creciente de aplicaciones prácticas en agricultura, biotecnología e ingeniería biomédica. Especialmente tras haber completado la secuencia del genoma humano, el progreso de la biología celular y molecular está abriendo nuevos horizontes en la práctica médica. Ejemplos llamativos incluyen la identificación de genes que influyen en la susceptibilidad individual a diversas enfermedades comunes, como las cardiopatías, la artritis reumatoide y la diabetes; el desarrollo de nuevos fármacos especialmente diseñados para interferir con el crecimiento de células cancerosas y con el uso potencial de células madre para sustituir tejidos dañados y tratar pacientes que padecen enfermedades como la diabetes, enfermedad de Parkinson, de Alzheimer y lesiones de la médula espinal.

Dado que la biología celular y molecular es un campo de investigación de rápido crecimiento, este capítulo se centrará en cómo se estudian las células, así como servirá para revisar sus propiedades básicas. La apreciación de las similitudes y diferencias entre las células resulta particularmente importante para entender la biología celular. La primera sección de este capítulo por tanto discutirá la unidad y la diversidad de las células presentes hoy en día en términos de su evolución desde un ancestro común. Por otra parte, todas las células comparten propiedades fundamentales que se han conservado a través de la evolución. Por ejemplo, todas las células utilizan **ADN** como material genético, están rodeadas por una membrana plasmática y usan los mismos mecanismos básicos para el metabolismo energético. Por otro lado, las células actuales han evolucionado en diferentes estilos de vida. Muchos organismos, como las bacterias, amebas y levaduras, se componen de células únicas capaces de autorreplicarse independientemente. Los organismos más complejos están compuestos por una colección de células que funcionan de manera coordinada, con diferentes células especializadas para desarrollar funciones particulares. **El cuerpo humano**, por ejemplo, está compuesto de más de 200 tipos diferentes de células, cada una de ellas especializada para una función distintiva como la memoria, la locomoción o la digestión. La diversidad exhibida por los diferentes tipos de células es sorprendente; por ejemplo, consideremos las diferencias entre las bacterias y las células del cerebro humano.

Las similitudes fundamentales entre los diferentes tipos de células proporcionan un marco común para la biología celular, permitiendo que los principios básicos aprendidos a partir de experimentos con un solo tipo de célula puedan ser extrapolados y generalizados a otros tipos de células. Diversos tipos de células y organismos son extensamente utilizados para estudiar los diferentes aspectos de la biología celular y molecular; la segunda sección de este capítulo expone algunas de las propiedades de estas células que las hacen particularmente valiosas como modelos experimentales. Finalmente, es importante reconocer que el progreso de la biología celular depende también de los instrumentos experimentales que permiten a los científicos hacer nuevas observaciones o desarrollar experimentos novedosos. Este capítulo de presentación concluye por tanto con una exposición sobre algunos experimentos utilizados para el estudio de las células, a la vez que resume algunos de los descubrimientos históricos que han llevado a nuestro conocimiento actual sobre la estructura de la célula y su función.

## Origen y evolución de las células

Las células se dividen en dos clases principales, inicialmente definidas según contengan o no núcleo. Las células procariotas (bacterias) carecen de envoltura nuclear; las células eucariotas presentan un núcleo donde el material genético está separado del citoplasma. Las células procariotas son generalmente más pequeñas y simples que las células eucariotas; además de la ausencia de núcleo, sus genomas son menos complejos y no contienen orgánulos citoplasmáticos (tabla 1.1). Al margen de estas diferencias, los mismos mecanismos moleculares básicos gobiernan las vidas de procariotas y eucariotas, indicando que todas las células presentes hoy descienden de un ancestro primordial único. ¿Cómo se desarrolló la primera célula? ¿Y cómo evolucionaron la complejidad y la diversidad que exhiben las células actuales?

### La primera célula

Parece ser que la vida emergió hace, al menos, 3.800 millones de años, aproximadamente 750 millones de años después de que se formara la Tierra. Cómo se originó la vida y cómo la primera célula se convirtió en un ser son cuestiones de especulación, puesto que estos acontecimientos no pueden reproducirse en el laboratorio. No obstante, diferentes tipos de experimentos han proporcionado evidencias importantes sobre algunos pasos del proceso.

En 1920 se sugirió por primera vez que moléculas orgánicas simples podrían polimerizar espontáneamente y formar macromoléculas bajo las condiciones que se pensaba que existían en la atmósfera primitiva. En el momento en el que surgió la vida, la atmósfera de la Tierra se piensa que contenía poco o ningún oxígeno libre, constando principalmente de  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2$  además de pequeñas cantidades de gases como  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  y  $\text{CO}$ . Tal atmós-

Tabla 1.1 Células procariotas y eucariotas

Características	Procariota	Eucariota
Núcleo	Ausente	Presente
Diámetro de una célula típica	$\approx 1 \mu\text{m}$	10-100 $\mu\text{m}$
Orgánulos citoplasmáticos	Ausente	Presente
Contenido de ADN (pares de bases)	$1 \times 10^6$ a $5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$ a $5 \times 10^9$
Cromosomas	Una molécula de ADN circular	Múltiples moléculas de ADN lineal



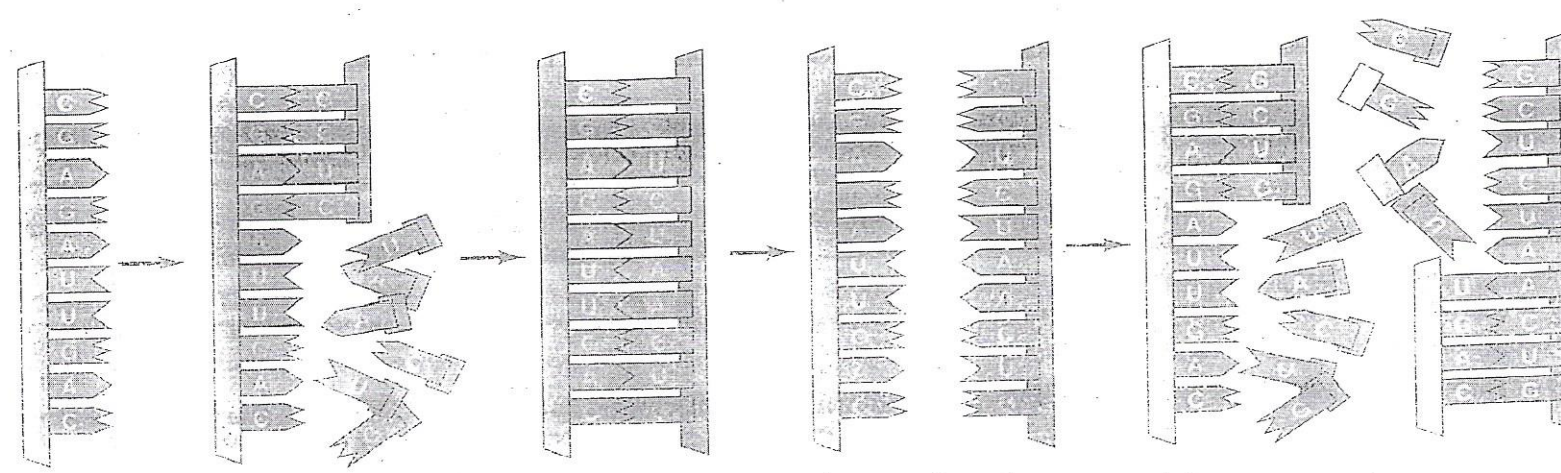
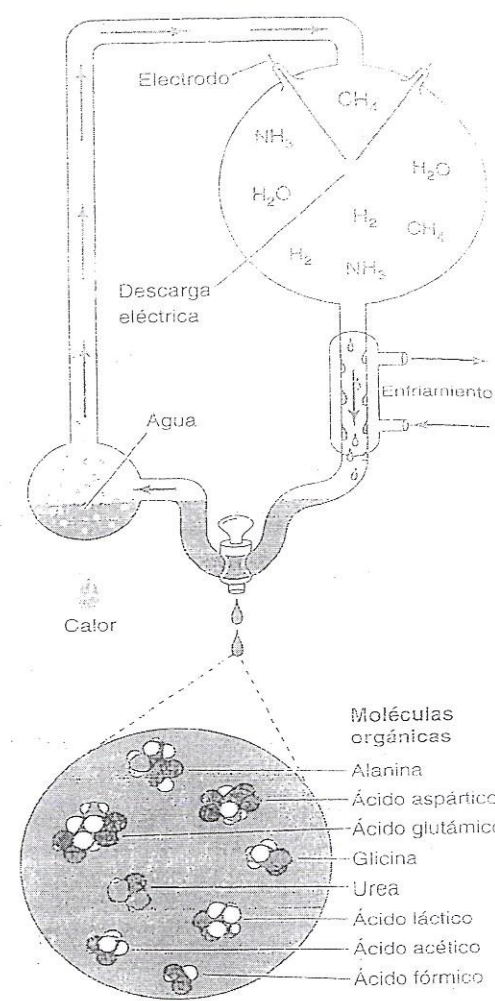


**Figura 1.1 Formación espontánea de las moléculas orgánicas.** El vapor de agua se expulsaba a una atmósfera que consistía en  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$  y  $\text{H}_2$ , en la que se descargaban chispas de electricidad. El análisis de los productos de la reacción reveló la formación de varias moléculas orgánicas, incluyendo los aminoácidos alanina, ácido aspártico, ácido glutámico y glicina.

fera proporciona condiciones reductoras en las que las moléculas orgánicas, con una fuente de energía como la luz solar o descargas eléctricas, se pueden formar espontáneamente. La formación espontánea de las moléculas orgánicas fue demostrada por primera vez experimentalmente en los años 50, cuando Stanley Miller (un estudiante graduado en aquel entonces) demostró que la descarga de chispas eléctricas en una mezcla de  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{NH}_3$ , en presencia de agua, conducía a la formación de una variedad de moléculas orgánicas, incluyendo varios aminoácidos (Fig. 1.1). Aunque el experimento de Miller no reprodujo con precisión las condiciones primitivas de la Tierra, claramente demostró la plausibilidad de la síntesis espontánea de las moléculas orgánicas, proporcionando los materiales básicos desde donde surgieron los primeros organismos vivos.

El siguiente paso en la evolución fue la formación de las macromoléculas. Se ha demostrado que los bloques monoméricos que constituyen las macromoléculas se polimerizan espontáneamente bajo condiciones prebióticas plausibles. El calentamiento de mezclas secas de aminoácidos, por ejemplo, da como resultado su polimerización para formar polipéptidos. Pero la característica fundamental de la macromolécula de la que surgió la vida debe tener la habilidad de replicarse por sí misma. Solamente una macromolécula capaz de dirigir la síntesis de nuevas copias de sí misma sería capaz de reproducirse y evolucionar.

De las dos clases principales de macromoléculas que aportan información en las células actuales (ácidos nucleicos y proteínas), sólo los ácidos nucleicos son capaces de dirigir su propia replicación. Los ácidos nucleicos pueden servir como molde para su propia síntesis como resultado del apareamiento de bases específicas entre nucleótidos complementarios (Fig. 1.2). Uno de los pasos críticos en el aprendizaje de la evolución molecular ocurrió a principios de los años 80, cuando se descubrió en los laboratorios de Sid Altman y Tom Cech que el ARN es capaz de catalizar numerosas reacciones químicas, incluyendo la polimerización de nucleótidos. El ARN es, por tanto, el único capaz de servir como molde y catalizar su propia replica-



**Figura 1.2 Autorreplicación propia del ARN.** Las parejas complementarias entre los nucleótidos (adenina [A] con uracilo [U] y guanina [G] con citosina [C]) permiten que una hebra de ARN sirva como molde para la síntesis de una nueva hebra con la secuencia complementaria.



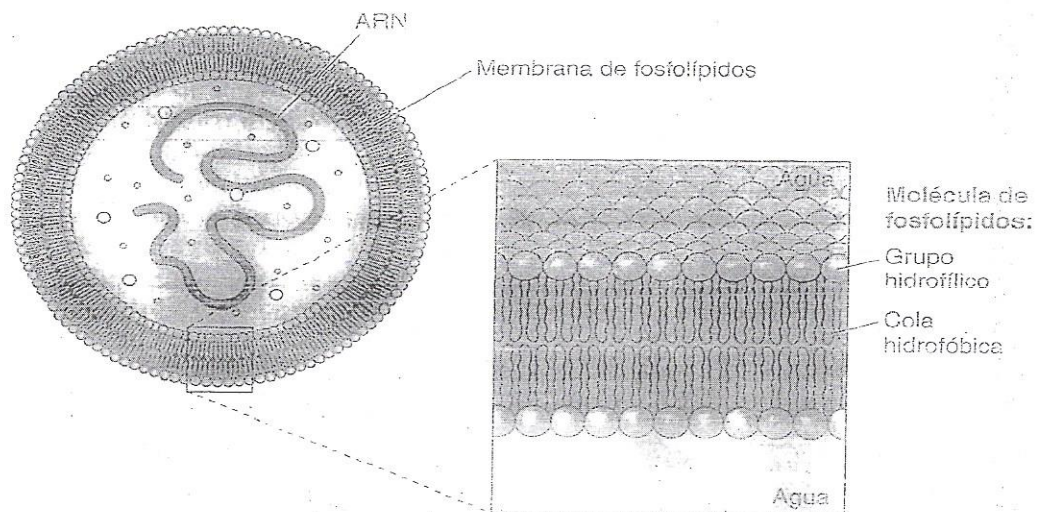
ción. Como consecuencia, se cree que el ARN ha sido el sistema genético inicial, y que una etapa temprana de la evolución química estuvo basada en moléculas de ARN con replicación propia —un período de la evolución conocido como el mundo del ARN—. Las interacciones en orden entre el ARN y los aminoácidos evolucionaron a lo que hoy es el código genético, y eventualmente el ADN reemplazó al ARN como el material genético.

Se presupone que la primera célula surgió de la envoltura del ARN de replicación propia en una membrana compuesta por fosfolípidos (Fig. 1.3). Tal y como se expondrá en detalle en el próximo capítulo, los fosfolípidos son los componentes básicos de todas las membranas biológicas presentes hoy día, incluyendo la membrana plasmática de células procariotas y eucariotas. La característica clave de los fosfolípidos que forman las membranas es que son moléculas anfipáticas, lo que quiere decir que una porción de la molécula es soluble en agua y la otra porción no. Los fosfolípidos presentan largas cadenas hidrocarbonadas insolubles en agua (hidrofóbicas) unidas a grupos solubles en agua (hidrofílicos) que contienen fosfatos. En contacto con el agua, los fosfolípidos espontáneamente se agrupan en una bicapa con los grupos que contienen fosfatos en el exterior en contacto con el agua y sus colas hidrocarbonadas en el interior en contacto unas con otras. Esta bicapa fosfolipídica forma una barrera estable entre dos compartimentos acuosos —por ejemplo, separando el interior de la célula de su ambiente externo.

La envoltura del ARN *autorreplicante* y las moléculas asociadas a una membrana lipídica se han mantenido, por tanto, como una unidad, capaz de reproducirse a sí misma y evolucionar. La síntesis de proteínas a partir del ARN pudo ya haber evolucionado, en cuyo caso la primera célula consistiría en un ARN de replicación propia y sus proteínas codificadas.

### Evolución del metabolismo

Debido a que las células se originaron en un mar de moléculas orgánicas, éstas eran capaces de obtener alimento y energía directamente de su ambiente. Pero una situación como ésta es limitada en sí misma, por lo que las



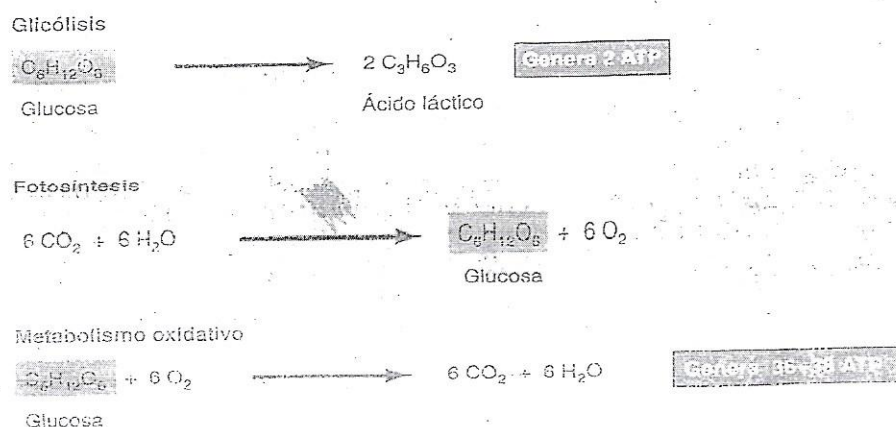
**Figura 1.3 Recubrimiento del ARN de autorreplicación con una membrana de fosfolípidos.** Se cree que la primera célula surgió del recubrimiento del ARN *autorreplicante* y sus moléculas asociadas por una membrana compuesta de fosfolípidos. Cada molécula de fosfolípidos presenta dos largas colas hidrofóbicas unidas a un grupo hidrofílico. Las colas hidrofóbicas están embebidas en la bicapa lipídica; las cabezas hidrofílicas están expuestas al agua a ambos lados de la membrana.



células necesitaron evolucionar sus propios mecanismos de creación de energía y sintetizar las moléculas necesarias para su replicación. La creación y la utilización controlada de la energía metabólica es primordial para todas las actividades celulares, y los procesos principales de metabolismo energético (analizados en detalle en el Cap. 3) se han conservado prácticamente intactos en las células actuales. Todas las células utilizan adenosina 5'-trifosfato (ATP) como fuente de energía metabólica para llevar a cabo la síntesis de los constituyentes celulares y conducir otras actividades que requieren energía, como el movimiento (p. ej., la contracción muscular). Los mecanismos utilizados por las células para generar ATP han evolucionado en tres etapas, correspondientes a la evolución de la glicólisis, fotosíntesis y metabolismo oxidativo (Fig. 1.4). El desarrollo de estos procesos metabólicos cambió la atmósfera de la Tierra, alterando en consecuencia el curso de la evolución.

En la atmósfera anaerobia inicial de la Tierra, las primeras reacciones generadoras de energía presumiblemente implicaron la escisión de moléculas orgánicas en ausencia de oxígeno. Estas reacciones parecen ser una forma de la actual glicólisis —la rotura anaerobia de la glucosa a ácido láctico, con la ganancia neta de energía de dos moléculas de ATP—. Además de utilizar ATP como su fuente de energía química intracelular, todas las células actuales llevan a cabo la glicólisis, de acuerdo con la idea de que estas reacciones surgieron muy pronto en la evolución.

La glicólisis proporcionó un mecanismo mediante el cual la energía en moléculas orgánicas ya formadas (p. ej., la glucosa) podía convertirse en ATP, que podía ser utilizado como fuente de energía para dirigir otras reacciones metabólicas. El desarrollo de la fotosíntesis fue el siguiente paso más importante de la evolución, que permitió a la célula generar energía a partir de la luz solar y ser independientes de la utilización de las moléculas orgánicas ya existentes. La primera bacteria fotosintética, que evolucionó hace más de 3 billones de años, probablemente utilizaba  $H_2S$  para convertir  $CO_2$  en moléculas orgánicas —todavía algunas bacterias utilizan un proceso de fotosíntesis similar—. La utilización de  $H_2O$  como donante de electrones



**Figura 1.4 Generación de energía metabólica.** La glicólisis es la rotura anaerobia de la glucosa en ácido láctico. La fotosíntesis utiliza la energía del sol para conducir la síntesis de la glucosa a partir del  $CO_2$  y el  $H_2O$ , liberando  $O_2$  como producto. El  $O_2$  liberado por la fotosíntesis lo utiliza el metabolismo oxidativo, en el que la glucosa se rompe en  $CO_2$  y  $H_2O$ , liberando mucha más energía que la obtenida de la glicólisis.

el hidrógeno para la conversión del  $\text{CO}_2$  a compuestos orgánicos evolucionó más tarde y tuvo la importante consecuencia de cambiar la atmósfera de la Tierra. El uso de  $\text{H}_2\text{O}$  en reacciones fotosintéticas produce  $\text{O}_2$  libre; se cree que este mecanismo ha sido el responsable de hacer a la atmósfera de la Tierra tan abundante en  $\text{O}_2$ .

La liberación de  $\text{O}_2$  como consecuencia de la fotosíntesis cambió el medio en el que las células evolucionaron, y se cree que determinó el desarrollo del metabolismo oxidativo. Alternativamente, el metabolismo oxidativo podría haber evolucionado antes que la fotosíntesis, y el aumento del  $\text{O}_2$  atmosférico proporcionaría una importante ventaja selectiva a los organismos capaces de utilizar  $\text{O}_2$  en las reacciones de generación de energía. En cualquier caso, el  $\text{O}_2$  es una molécula altamente reactiva, y el metabolismo oxidativo, usando esta reactividad, ha proporcionado un mecanismo de generación de energía a partir de moléculas orgánicas mucho más eficiente que la glicólisis anaerobia. Por ejemplo, la rotura oxidativa completa de la glucosa en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  produce energía equivalente a 36 ó 38 moléculas de ATP, en comparación con las dos moléculas de ATP que se forman en la glicólisis anaerobia (véase Fig. 1.4). Con pocas excepciones, las células actuales utilizan reacciones oxidativas como fuente principal de energía.

### Procariotas actuales

Los procariotas actuales, que incluyen todos los tipos de bacterias, están divididos en dos grupos —las arqueobacterias y las eubacterias— que se diferenciaron al principio de la evolución. Algunas arqueobacterias viven en condiciones extremas, que hoy en día son inusuales pero que pudieron prevalecer en la primitiva Tierra. Por ejemplo, los termocidófilos viven en pozos calientes de sulfuro con temperaturas hasta de  $80^\circ\text{C}$  y valores de pH de 2. Las eubacterias incluyen las formas comunes que están presentes en nuestros días —un amplio grupo de organismos que viven en una gran variedad de ambientes, como la tierra, el agua y otros organismos (p.ej. los patógenos humanos).

La mayoría de las células bacterianas son esféricas, en forma de bastón, o espiral, con diámetros que oscilan de 1 a  $10\ \mu\text{m}$ . Su contenido de ADN varía desde unos 0,6 millones a 5 millones de pares de bases, cantidad suficiente para codificar unas 5.000 proteínas diferentes. Los procariotas más grandes y complejos son las cianobacterias, bacterias en las que evolucionó la fotosíntesis.

La estructura de célula procariota típica es la de *Escherichia coli* (*E. coli*), un habitante común del tracto intestinal humano (Fig. 1.5). La célula tiene forma de bastón, alrededor de  $1\ \mu\text{m}$  de diámetro y cerca de  $2\ \mu\text{m}$  de longitud. Como la mayoría de los otros procariotas, *E. coli* está rodeada por una pared celular bacteriana rígida compuesta de polisacáridos y péptidos. Dentro de la pared celular se encuentra la membrana plasmática, que es una bicapa de fosfolípidos y proteínas asociadas. Mientras que la pared celular es porosa y puede ser penetrada por una variedad de moléculas, la membrana plasmática proporciona una separación funcional entre el interior de la célula y su medio externo. El ADN de *E. coli* es una molécula circular única en el nucleóide, que, en comparación con el núcleo de los eucariotas, no está rodeado por una membrana que lo separe del citoplasma. El citoplasma contiene aproximadamente 30.000 ribosomas (lugar de la síntesis de proteínas), que destacan por su apariencia granular.

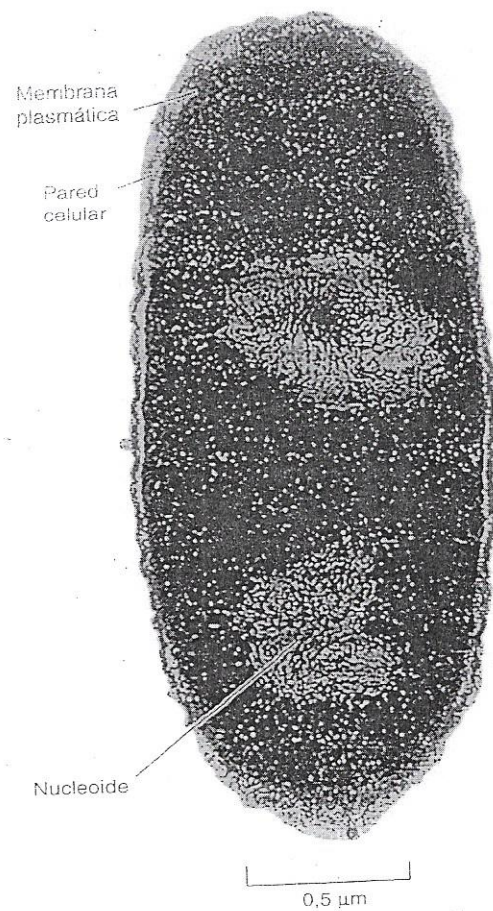
### Células eucariotas

Como las células procariotas, todas las células eucariotas están rodeadas por membranas plasmáticas y contienen ribosomas. No obstante, las células eucariotas son mucho más complejas y contienen un núcleo, variedad de

La existencia de organismos en condiciones extremas ha dado lugar a la hipótesis de que la vida podía existir en ambientes similares en otros lugares del sistema solar. El campo de la astrobiología (o exobiología) busca encontrar señales de vida más allá de la Tierra.



**Figura 1.5 Micrografía electrónica de *E. coli*.** La célula está rodeada por una pared celular, dentro de la que se encuentra la membrana plasmática. El ADN se encuentra en el nucleóide. (Menge and Wurtz/Biozentrum, University of Basel/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.).



orgánulos citoplasmáticos, y un citoesqueleto (Fig. 1.6). El orgánulo más grande y prominente de las células eucariotas es el núcleo, con un diámetro aproximado de 5  $\mu\text{m}$ . El núcleo contiene la información genética de la célula, que en los eucariotas se encuentra organizada de forma linear en lugar de moléculas de ADN circular. El núcleo es el sitio de la replicación del ADN y de la síntesis del ARN; la traducción del ARN en proteínas tiene lugar en los ribosomas del citoplasma.

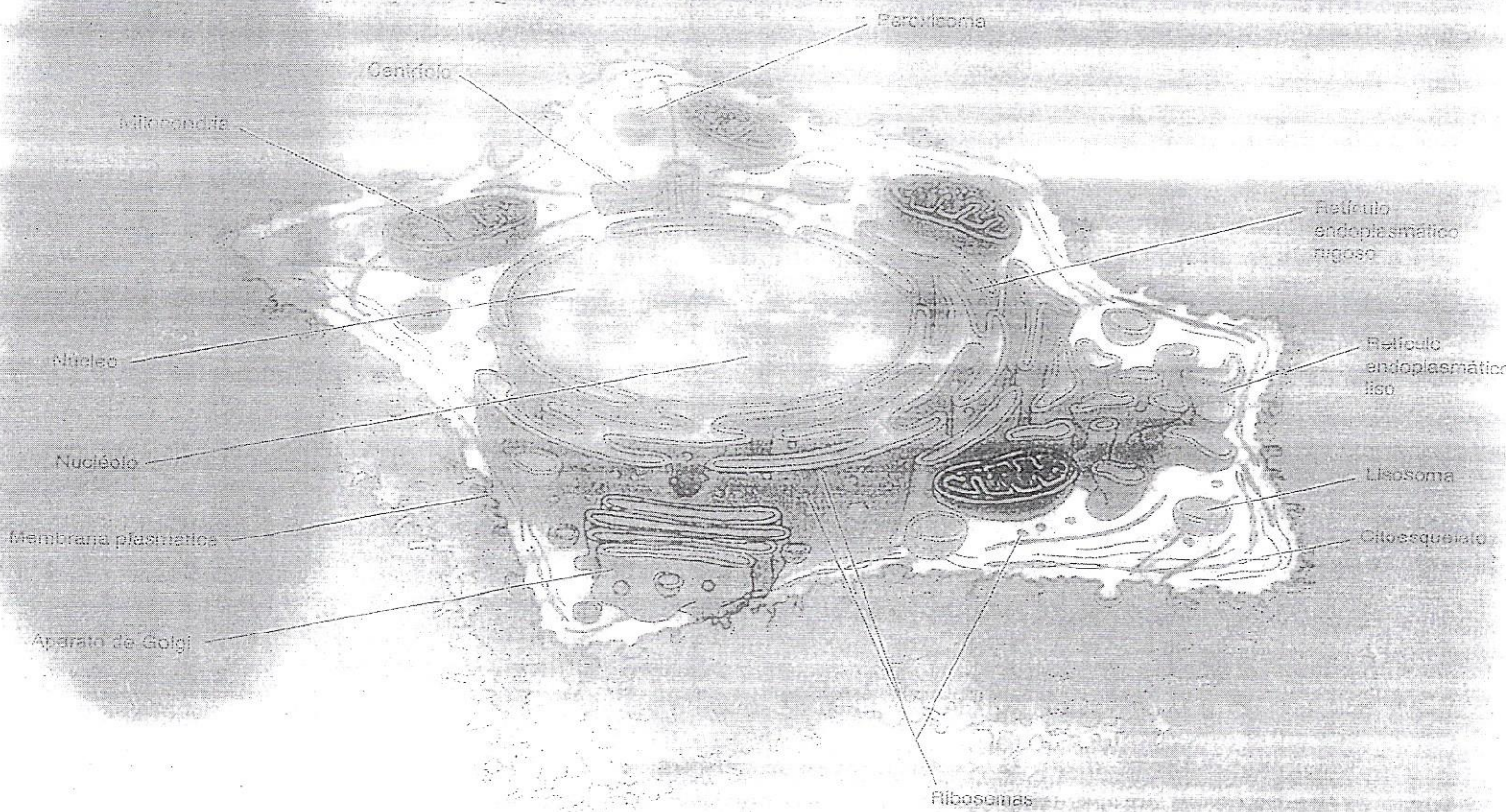
Además de un núcleo, las células eucariotas contienen una variedad de orgánulos delimitados por membranas dentro del citoplasma. Estos orgánulos proporcionan diferentes compartimentos en los que se localizan las distintas actividades metabólicas. Las células eucarióticas son por lo general más grandes que las células procariotas, con frecuencia presentando un volumen celular cien veces mayor. La compartimentalización proporcionada por los orgánulos citoplasmáticos es lo que permite a las células eucariotas funcionar con eficiencia. Dos de estos orgánulos, las mitocondrias y los cloroplastos, juegan papeles imprescindibles en el metabolismo energético. Las mitocondrias, que se encuentran en casi todas las células eucariotas, son los centros del metabolismo oxidativo y son por tanto las responsables de generar la mayoría del ATP derivado de la rotura de moléculas orgánicas. Los cloroplastos son los centros donde se lleva a cabo la fotosíntesis y se encuentran exclusivamente en las células de las plantas y algas verdes. Los lisosomas y los peroxisomas también proporcionan compartimentos metabólicos especializados para la digestión de macromoléculas y varias reacciones oxidativas, respectivamente. Además, la mayoría de las células de las plantas contienen grandes vacuolas que desarrollan variedad de funciones, incluyendo la digestión de macromoléculas y el almacenaje de productos de desecho y nutrientes.

Debido al tamaño y complejidad de las células eucariotas, el transporte de proteínas a sus destinos dentro de la célula es una labor formidable. Dos orgánulos citoplasmáticos, el **retículo endoplasmático** y el **aparato de Golgi**, están específicamente dedicados a la diferenciación y transporte de las proteínas destinadas a la secreción, a la incorporación en la membrana plasmática y a la incorporación en los lisosomas. El retículo endoplasmático es una red extensa de membranas intracelulares, que se extienden desde la membrana nuclear hasta atravesar todo el citoplasma. No solo actúa en el proceso y transporte de proteínas, sino también en la síntesis de lípidos. Desde el retículo endoplasmático, las proteínas son transportadas dentro de pequeñas vesículas al aparato de Golgi, donde siguen siendo procesadas y clasificadas para el transporte a sus destinos finales. Además de esta función de transporte de proteínas, el aparato de Golgi presenta síntesis de lípidos y (en células de las plantas) síntesis de algunos polisacáridos que componen la pared celular.

Las células eucariotas tienen otro nivel de organización interna: el citoesqueleto, una red de filamentos proteínicos que se extienden por el citoplasma. El citoesqueleto proporciona el marco estructural de la célula, determinando la forma celular y la organización general del citoplasma. Además, el citoesqueleto es responsable de los movimientos de todas las células (p. ej., la contracción de las células musculares), del transporte intracelular y la posición de los orgánulos y otras estructuras, incluyendo los movimientos de los cromosomas durante la división celular.



Célula animal



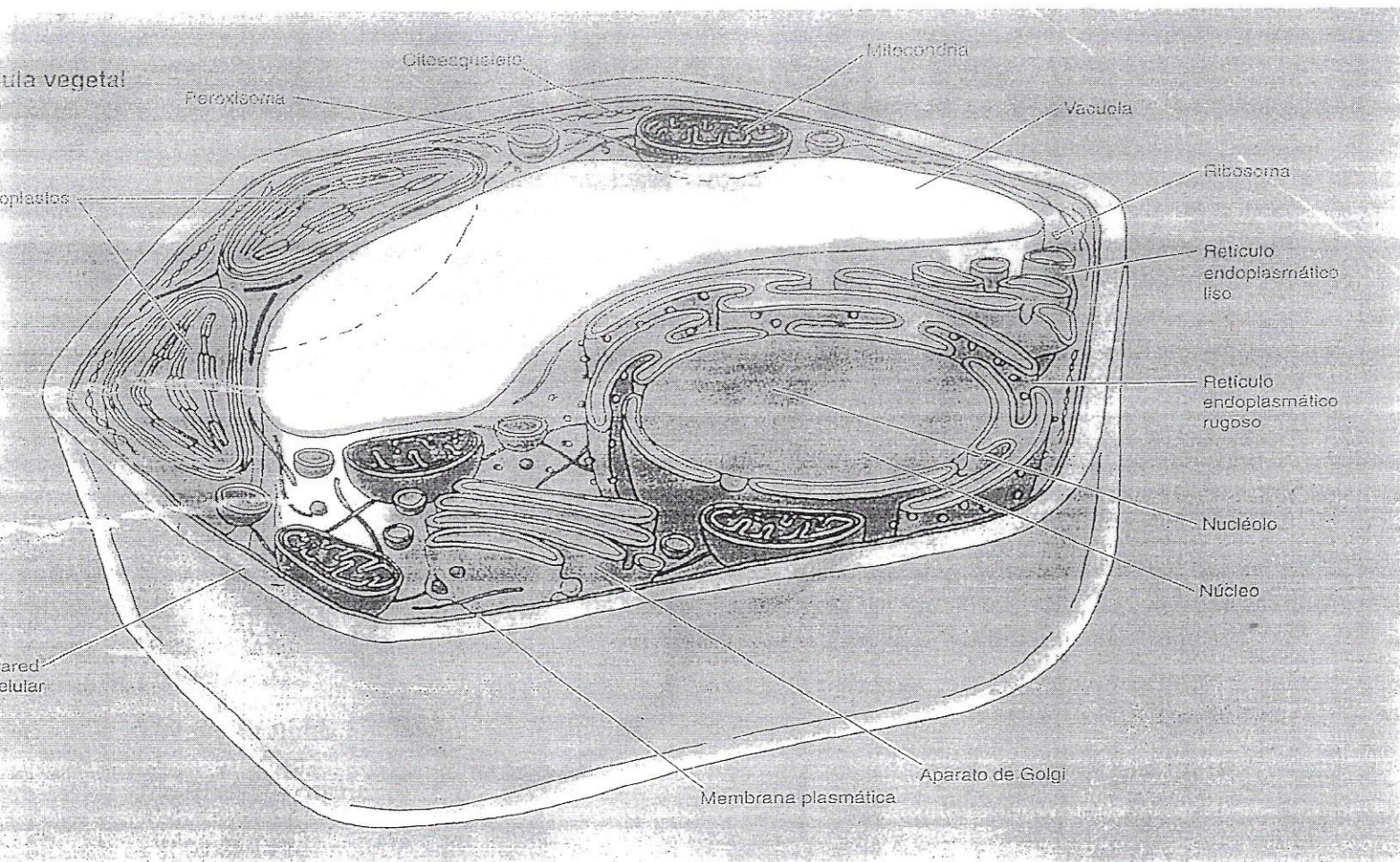
**Figura 1.6 Estructuras de las células animales y vegetales.** Las células animales y vegetales están rodeadas por una membrana plasmática y contienen un núcleo, un citoesqueleto y muchos orgánulos citoplasmáticos en común. Las células vegetales también están rodeadas por una pared celular y contienen cloroplastos y vacuolas grandes.

### El origen de los eucariotas

Un paso crítico en la evolución de las células eucariotas fue la adquisición de orgánulos subcelulares encerrados por membranas, permitiendo el desarrollo de la complejidad característica de estas células. Los orgánulos de los eucariotas se cree que han surgido por endosimbiosis —una célula viviendo en el interior de otra—. En concreto, los orgánulos eucarióticos se cree que han evolucionado a partir de células procariotas que vivían en el interior de los ancestros de los eucariotas.

La hipótesis de que las células eucariotas evolucionaron por endosimbiosis está especialmente bien apoyada con los estudios de las mitocondrias y los cloroplastos, los cuales se cree que han evolucionado desde bacterias que vivían en células grandes. Las mitocondrias y los cloroplastos tienen un tamaño similar al de las bacterias, y como ellas, se reproducen mediante su escisión bipartita. Lo más importante es que las mitocondrias y los cloroplastos contienen su propio ADN, que codifica algunos de sus componentes. El ADN de las mitocondrias y cloroplastos se replica cada vez que el orgánulo se divide, y los genes que contiene se transcriben dentro del orgánulo y se traducen en los ribosomas de este. Por lo tanto, las mitocondrias y los cloroplastos contienen sus propios sistemas genéticos, que son diferentes del genoma nuclear de la célula. Además, los ribosomas y los ARN ribosómicos de estos orgánulos están más relacionados con los bacterianos que aquellos codificados por los genomas nucleares de los eucariotas.



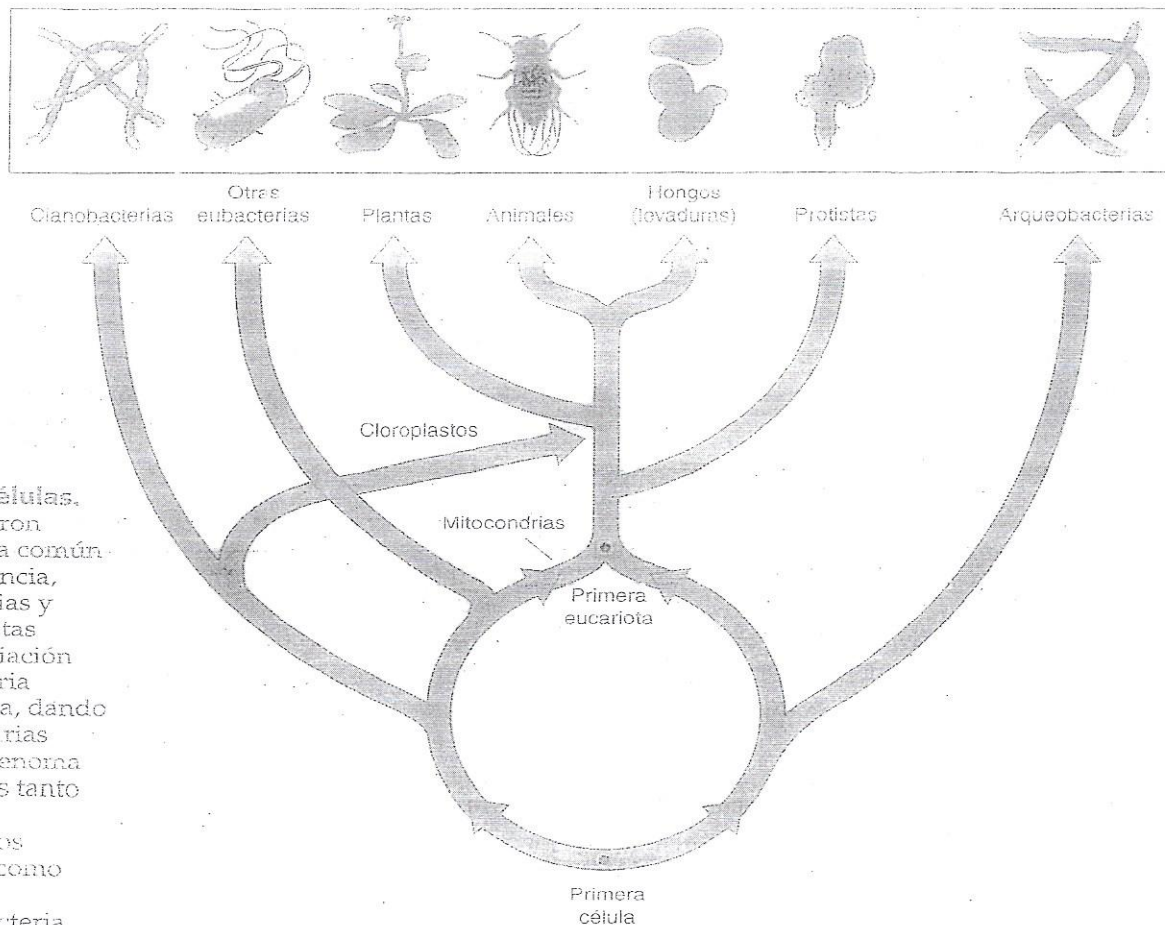


En general, se ha aceptado un origen endosimbiótico de estos orgánulos, suponiendo que la mitocondria ha evolucionado a partir de las eubacterias aerobias y los cloroplastos de las eubacterias fotosintéticas, como las cianobacterias. La adquisición de bacterias aerobias podría provenir de una célula anaerobia con la habilidad de llevar a cabo un metabolismo oxidativo. La adquisición de bacterias fotosintéticas podría provenir de la independencia nutricional conseguida al desarrollar la fotosíntesis. Por tanto, estas asociaciones endosimbióticas resultaron muy beneficiosas para sus asociados, que fueron seleccionados en el curso de la evolución. A través del tiempo, la mayoría de los genes originalmente presentes en estas bacterias en apariencia pasaron a incorporarse dentro del genoma nuclear de la célula, así que solamente algunos componentes de las mitocondrias y cloroplastos siguen siendo codificados por los genomas de los orgánulos.

El origen preciso de las células eucarióticas sigue siendo un tema sin esclarecer en nuestra comprensión de la evolución temprana. Los estudios de sus secuencias de ADN indican que las arqueobacterias y eubacterias son tan distintas entre sí como cada una de ellas lo es de los eucariotas actuales. Por lo tanto, un suceso muy temprano en la evolución parece haber sido la divergencia de dos líneas de descendientes a partir de un ancestro procariótico común, dando lugar a las arqueobacterias y eubacterias actuales. Sin embargo, ha sido difícil determinar si algunos eucariotas evolucionaron a partir de eubacterias o a partir de arqueobacterias. Sorprendentemente, algunos genes eucarióticos son más similares a genes eubacterianos mientras

■ Algunos protistas marinos actuales engloban algas para que sirvan como endosimbiontes que llevan a cabo la fotosíntesis para sus hospedadores.





**Figura 1.7 Evolución de las células.** Las células actuales evolucionaron desde un antepasado procariota común a tres largas líneas de descendencia, dando lugar a las arqueobacterias y eubacterias. Las células eucariotas pueden haber surgido por asociación endosimbiótica de una eubacteria aeróbica con una arqueobacteria, dando lugar al desarrollo de mitocondrias además de a la formación del genoma eucariótico con genes derivados tanto de eubacterias como de arqueobacterias. Los cloroplastos evolucionaron posteriormente como resultado de la asociación endosimbiótica de una cianobacteria con el antecesor de las plantas. El modelo para la formación de la primera célula eucariótica está basado en M. C. Rivera y J. A. Lake, 2004. *Nature* 431: 152.

que otros son más similares a genes arqueobacterianos. El genoma de los eucariotas parece así consistir de algunos genes derivados de eubacterias y de otros procedentes de arqueobacterias, en lugar de reflejar un genoma de un ancestro eubacteriano o arqueobacteriano. Sorprendentemente, la mayoría de los genes eucarióticos relacionados con procesos de información (como la replicación del ADN, la transcripción y la síntesis de proteínas) proceden de las arqueobacterias, mientras que la mayor parte de los genes eucarióticos vinculados con procesos operativos básicos de la célula (como la glucólisis y la biosíntesis de aminoácidos) derivan de las eubacterias.

Una hipótesis reciente explica la naturaleza de mosaico de los genomas eucarióticos proponiendo que el genoma de los eucariotas surgió de una fusión de genomas arqueobacteriano y eubacteriano (Fig. 1.7). De acuerdo con esta proposición, una asociación endosimbiótica entre una eubacteria y una arqueobacteria fue seguida de una fusión de dos genomas procarióticos, dando lugar a un genoma eucariótico ancestral con contribuciones tanto de eubacterias como de arqueobacterias. La versión más sencilla de esta hipótesis es que una relación endosimbiótica inicial de una eubacteria que vivía en el interior de una arqueobacteria, dio lugar no sólo a las mitocondrias sino también al genoma de las células eucarióticas, conteniendo genes derivados de ambos ancestros procarióticos.

### Desarrollo de organismos multicelulares

Muchos eucariotas son organismos unicelulares que, como las bacterias, se componen de células únicas capaces de su propia replicación. Los eucariotas más simples son las levaduras. Las levaduras son más complejas que las bacterias, pero mucho más pequeñas y simples que las células animales o



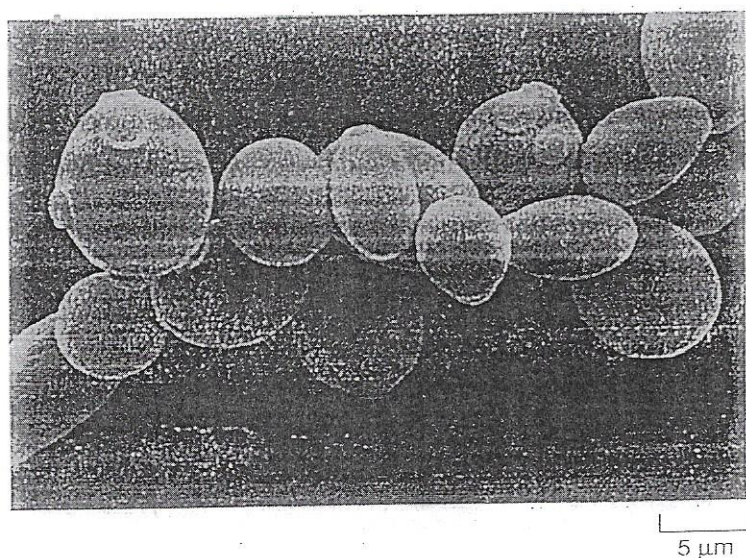


Figura 1.8 Micrografía electrónica de barrido de *Saccharomyces cerevisiae*. Micrografía con color artificial. (© Medical-on-Line/Alamy.)

vegetales. Por ejemplo, la levadura hasta ahora más estudiada *Saccharomyces cerevisiae* tiene un diámetro aproximado de 6 µm y contiene 12 millones de pares de bases de ADN (Fig. 1.8). Sin embargo, otros eucariotas unicelulares son células mucho más complejas, algunas contienen tanto ADN como el que contienen las células humanas. Estos incluyen organismos especializados para desarrollar gran variedad de funciones, incluyendo la fotosíntesis, el movimiento y la captura e ingestión de otros organismos como alimento. La *Amoeba proteus*, por ejemplo, es una célula grande y compleja. Su volumen es 100.000 veces mayor que el de *E. coli*, y su longitud puede sobrepasar 1 mm cuando la célula está completamente extendida (Fig. 1.9). Las amebas son organismos muy móviles que utilizan extensiones citoplasmáticas, llamadas *pseudopodia* o *pseudópodos*, para moverse y envolver a otros organismos, incluyendo bacterias y levaduras, como alimento. Otros eucariotas unicelulares (las algas verdes) contienen cloroplastos y son capaces de llevar a cabo la fotosíntesis.

Los organismos multicelulares evolucionaron de los eucariotas unicelulares hace más de 1.000 millones de años. Algunos eucariotas unicelulares forman agregados multicelulares que parecen representar una transición evolutiva desde una única célula a un organismo multicelular. Por ejemplo, las células de muchas algas (p. ej., el alga verde *Volvox*) se asocian unas con otras para formar colonias multicelulares (Fig. 1.10), las cuales se cree que son los precursores evolutivos de las plantas actuales. El aumento de la especialización celular determinó la transición de las colonias agregadas a los verdaderos organismos multicelulares. La continua especialización y la división de las funciones entre las células de un organismo ha proporcionado la complejidad y diversidad observada en los muchos tipos de células que componen las plantas y animales de hoy, incluyendo a los seres humanos.

Las plantas se componen de menos tipos de células que los animales, pero cada tipo diferente de célula vegetal está especializada para desarrollar funciones específicas requeridas por el organismo en su conjunto (Fig. 1.11). Las células vegetales están organizadas en tres sistemas de tejidos principales: tejido basal, tejido dérmico y tejido vascular. El tejido basal contiene a las células del parénquima, que lleva a cabo la mayoría de las reacciones metabólicas de la planta, incluyendo la fotosíntesis. El tejido basal también contiene dos tipos de células especializadas (células del colénquima y células del esclerénquima) que se caracterizan por paredes celulares

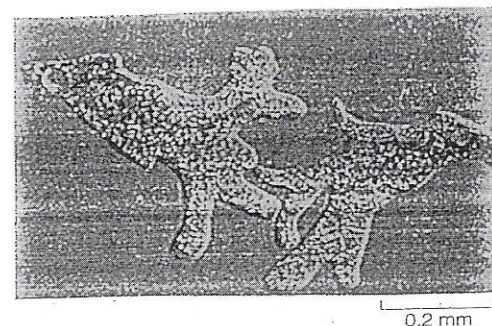


Figura 1.9 Micrografía óptica de *Amoeba proteus*. (M. I. Walker/Photo Researchers, Inc.)

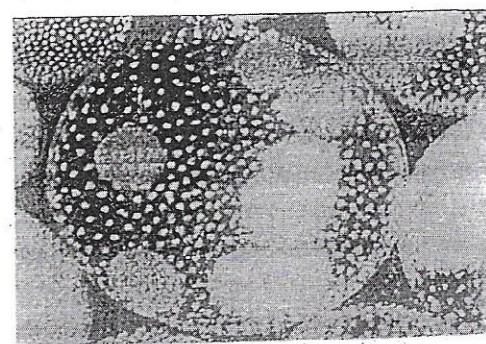


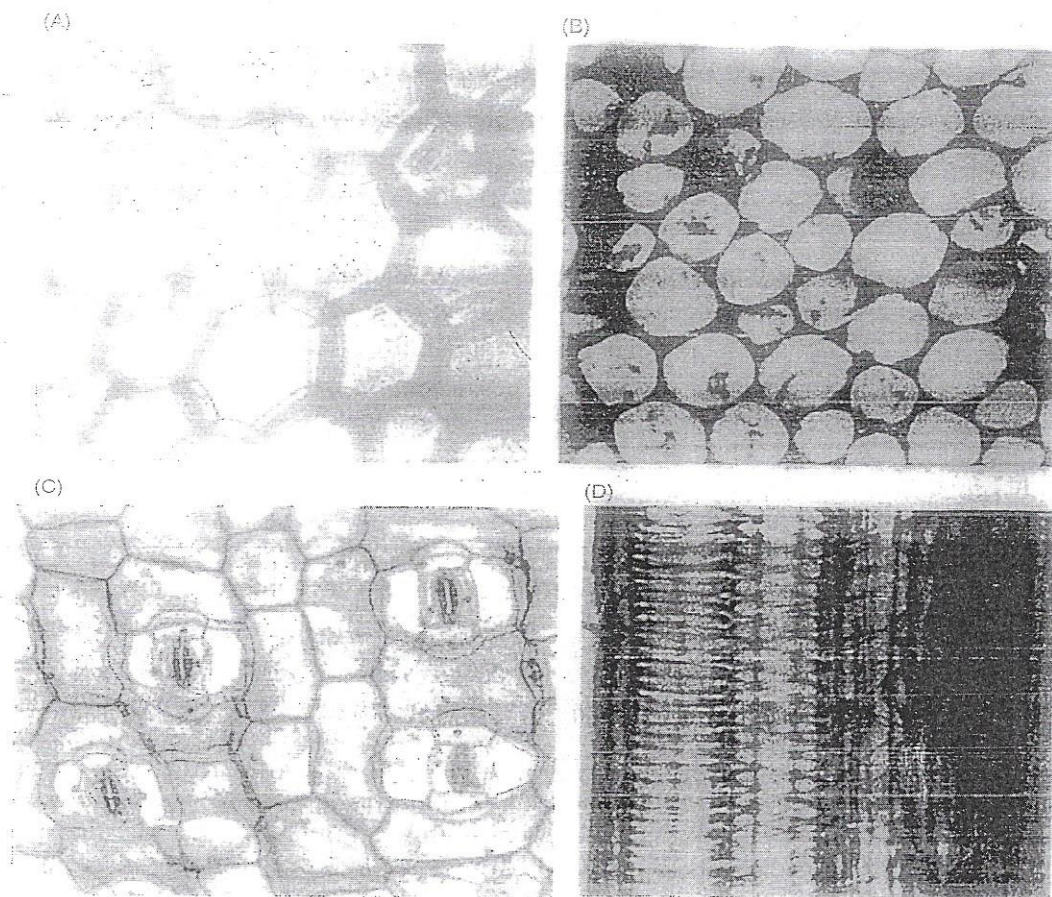
Figura 1.10 Alga verde colonial. Las células individuales de *Volvox* forman colonias que consisten en esferas huecas en las que están embebidas en una masa gelatinosa cientos o miles de células. (Cabisco/Visuals Unlimited.)



Figura 1.11 Micrografías ópticas de células vegetales representativas.

(A) Células del parénquima, responsables de la fotosíntesis y de otras reacciones metabólicas. (B) Células del colénquima, especializadas para dar soporte y endurecer las paredes celulares. (C) Células epidérmicas en la superficie de una hoja. Pequeños poros (estomas) se encuentran flanqueados por células especializadas denominadas células guardia. (D) Los elementos de los vasos y las traqueidas son células alargadas que se disponen enfrentadas para formar los vasos del xilema.

(A, Jack M. Bastsack/Visuals Unlimited; B, A. J. Karpoff/Visuals Unlimited; C, Alfred Ōwczarzak/Biological Photo Service; D, Biophoto Associates/Science Source/Photo Researchers Inc.)



50  $\mu$ m

res gruesas y por proporcionar el soporte estructural de la planta. El tejido dérmico cubre la superficie de la planta y está compuesto por células epidérmicas, que forman un revestimiento de protección y permiten la absorción de nutrientes. Finalmente, el sistema vascular (el xilema y floema) está formado por diversos tipos de células alargadas, y es el responsable del transporte de agua y nutrientes a través de la planta.

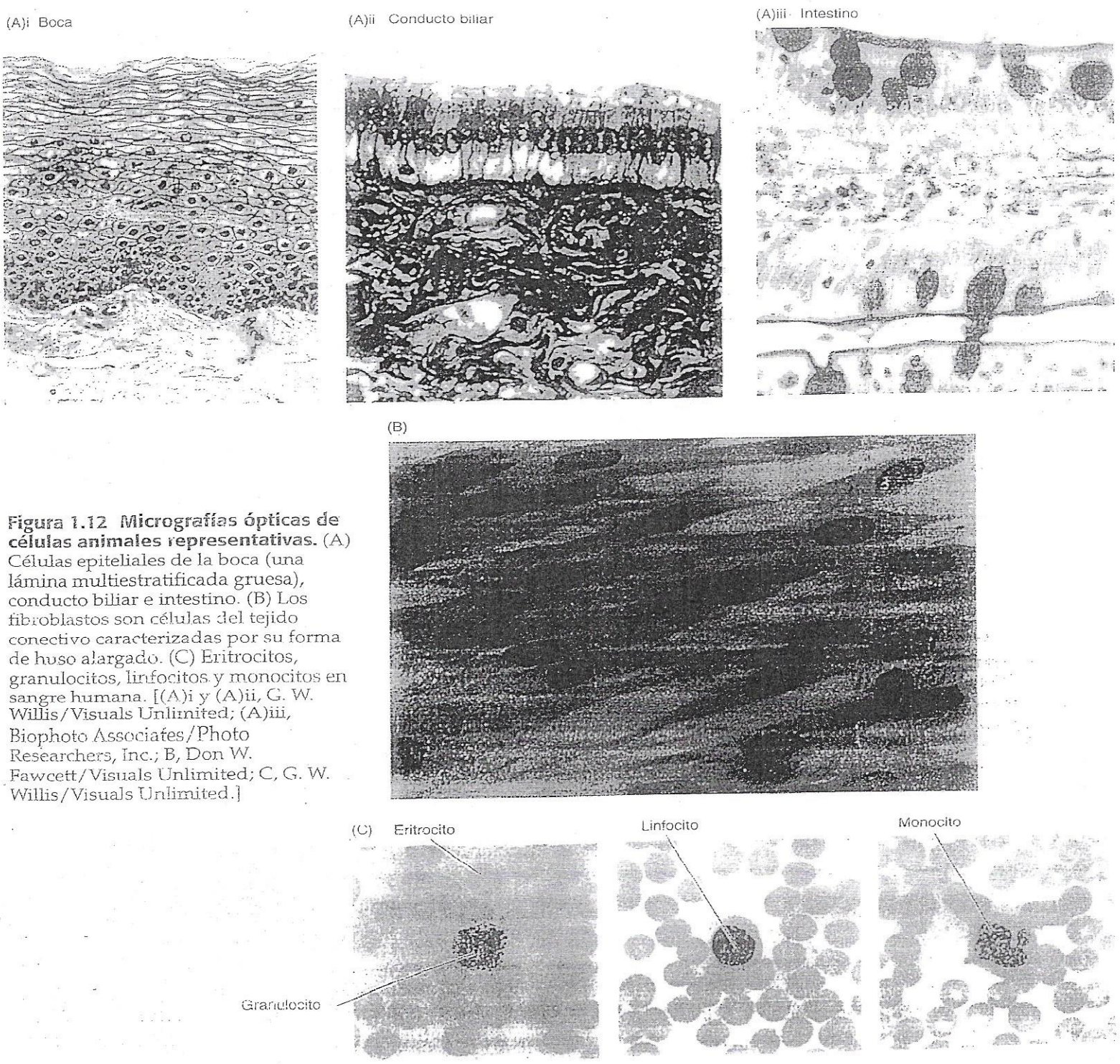
Las células presentes en animales son considerablemente más diversas que las de las plantas. El cuerpo humano, por ejemplo, está compuesto por más de 200 tipos de células diferentes, consideradas generalmente como componentes de los cinco tipos principales de tejidos: tejido epitelial, tejido conectivo, sangre, tejido nervioso y tejido muscular (Fig. 1.12). Las células epiteliales forman láminas que cubren la superficie del cuerpo y delimitan los órganos internos. Existen muchos tipos diferentes de células epiteliales, cada una especializada para una función específica, incluyendo protección (la piel), absorción (p. ej., las células del intestino delgado), y secreción (p. ej., células de la glándula salivar). El tejido conectivo incluye hueso, cartílago y tejido adiposo, cada uno de los cuales está formado por diferentes tipos de células (osteoblastos, condrocitos y adipocitos, respectivamente). El tejido conectivo suelto que delimita con las capas epiteliales y rellena los espacios entre los órganos y tejidos del cuerpo está formado por otro tipo de células, los fibroblastos. La sangre contiene diferentes tipos de células: los glóbulos rojos (eritrocitos) funcionan en el transporte de oxígeno, y los glóbulos blancos (granulocitos, monocitos, macrófagos y linfocitos) funcionan en las reacciones inflamatorias y en la respuesta inmune. El tejido nervioso está formado por células nerviosas, o neuronas, que están altamente especializadas en la transmisión de señales a través del cuerpo. Varios tipos

00000024401



de células sensoriales, como las células del ojo y el oído, están aún más especializadas en la recepción de señales del ambiente. Finalmente, diferentes tipos de células musculares son responsables de la producción de fuerza y movimiento.

La evolución de los animales claramente implica el desarrollo de una diversidad y especialización considerable a nivel celular. Entender los mecanismos que controlan el crecimiento y diferenciación de estas células tan complejas y especializadas, desde la fertilización de un solo huevo, es uno de los mayores desafíos de la biología celular y molecular contemporánea.



**Figura 1.12 Micrográficas ópticas de células animales representativas.** (A) Células epiteliales de la boca (una lámina multiestratificada gruesa), conducto biliar e intestino. (B) Los fibroblastos son células del tejido conectivo caracterizadas por su forma de huso alargado. (C) Eritrocitos, granulocitos, linfocitos y monocitos en sangre humana. [(A)i y (A)ii, G. W. Willis/Visuals Unlimited; (A)iii, Biophoto Associates/Photo Researchers, Inc.; B, Don W. Fawcett/Visuals Unlimited; C, G. W. Willis/Visuals Unlimited.]



## Células como modelos experimentales

La evolución de las células actuales a partir de su antepasado común tiene importantes implicaciones para la biología celular y molecular como ciencia experimental. Debido a que las propiedades fundamentales de todas las células se han conservado durante la evolución, los principios básicos obtenidos de los experimentos desarrollados con un solo tipo de célula son generalmente aplicables a otras células. Por otra parte, debido a la diversidad de las células actuales, muchos de los experimentos son más fáciles de llevar a cabo con un tipo de células en lugar de otras. Se utilizan diferentes tipos de células y organismos como modelos experimentales para estudiar diversos aspectos de la biología celular y molecular. Las características de algunas de estas células que resultan particularmente ventajosas como modelos experimentales se discuten en las siguientes secciones. En muchos casos, la disponibilidad de secuencias genómicas completas incrementa el valor de estos organismos como sistemas modelo para la comprensión de la biología molecular de las células.

### *E. coli*

Debido a la simplicidad de su comparativa, las células procariotas (bacterias) son los modelos ideales para el estudio de los aspectos fundamentales de la biología molecular y la bioquímica. La especie de bacterias mejor estudiada es *E. coli*, que ha sido el organismo por excelencia en la investigación de los mecanismos básicos de la genética molecular. La mayoría de los conceptos actuales de la biología molecular —incluyendo nuestra comprensión sobre la replicación del ADN, el código genético, la expresión génica y la síntesis de proteínas— derivan de los estudios sobre esta humilde bacteria.

*E. coli* ha resultado especialmente útil para los biólogos moleculares debido a su relativa simplicidad y la facilidad para propagarse y ser estudiada en el laboratorio. El genoma de *E. coli*, por ejemplo, consiste en aproximadamente 4.6 millones de pares de bases y contiene aproximadamente unos 4.300 genes. El genoma humano es casi mil veces mayor (aproximadamente

3 billones de pares de bases) y se cree que contiene de 20.000 a 25.000 genes (véase Tabla 1.2). El tamaño pequeño del genoma de *E. coli* (que se secuenció por completo en 1997) proporciona claras ventajas para el análisis genético.

Los experimentos genéticos moleculares se ven facilitados por el rápido crecimiento de *E. coli* bajo condiciones de laboratorio pre-determinadas. Bajo condiciones óptimas de cultivo, *E. coli* se divide cada 20 minutos. Además, una población clónica de *E. coli*, en la que todas las células se derivan de la división de una única célula original, se puede aislar fácilmente como una colonia en crecimiento en un medio que contenga agar semi-sólido (Fig. 1.13). Debido a que las colonias bacterianas que contienen más de  $10^8$  células se pueden desarrollar en una noche, la selección de variantes genéticas de una cepa de *E. coli* —por ejemplo, mutantes que son resistentes a un antibiótico, como la penicilina— es fácil y rápida. La facilidad con la que estos mutantes pueden ser seleccionados y

Tabla 1.2 Contenido de ADN en las células

Organismo	Contenido de ADN haploide (millones de pares de bases)	Número de genes
Bacteria		
Mycoplasma	0.6	470
<i>E. coli</i>	4.6	4.300
Eucariotas unicelulares		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levaduras)	12	6.000
<i>Dictyostelium discoideum</i>	70	Desconocido
<i>Euglena</i>	3.000	Desconocido
Plantas		
<i>Arabidopsis thaliana</i>	125	26.000
<i>Zea mays</i> (maíz)	5.000	Desconocido
Animales		
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo)	97	19.000
<i>Drosophila melanogaster</i> (mosca de la fruta)	180	14.000
Pollo	1.200	20-23.000
Pez cebra	1.700	20-25.000
Ratón	3.000	20-25.000
Humano	3.000	20-25.000



analizados resultó clave para el éxito de los experimentos que definen los principios básicos de la genética molecular, discutidos en el Capítulo 4.

Las mezclas nutritivas en las que *E. coli* se divide más rápidamente incluyen glucosa, sales y varios compuestos orgánicos, tales como aminoácidos, vitaminas y precursores de ácidos nucleicos. No obstante, *E. coli* también puede crecer en un medio mucho más simple que contenga solamente sales, una fuente de nitrógeno (como el amoníaco), y una fuente de carbón y energía (como la glucosa). En este medio, la bacteria crece un poco más lenta (con un tiempo de división de unos 40 minutos) ya que tiene que sintetizar todos sus aminoácidos, nucleótidos y otros compuestos orgánicos. La habilidad de *E. coli* para llevar a cabo estas reacciones biosintéticas en un medio simple ha hecho que sea extremadamente útil para el descubrimiento de los procesos bioquímicos implicados. Por tanto, el rápido crecimiento y los simples requisitos nutricionales de *E. coli* han facilitado los experimentos fundamentales de la biología molecular y la bioquímica.

### Levaduras

Aunque las bacterias han sido un modelo de valor incalculable para el estudio de muchas de las propiedades conservadas de las células, éstas obviamente no pueden ser utilizadas para estudiar aspectos de la estructura y función celulares que son únicos de eucariotas. Las levaduras, los eucariotas más simples, aportan numerosas ventajas experimentales similares a las de *E. coli*. En consecuencia, las levaduras han proporcionado un modelo crucial para el estudio de muchos de los aspectos fundamentales de la biología celular eucariota.

El genoma de la levadura que con más frecuencia se ha estudiado, *Saccharomyces cerevisiae*, consiste en 12 millones de pares de bases de ADN y contiene alrededor de 6.000 genes. Aunque el genoma de las levaduras es aproximadamente tres veces mayor que el de *E. coli*, resulta más manejable que los genomas de eucariotas más complejos, como el de los humanos. Incluso en su simplicidad, la célula de levadura exhibe las características típicas de las células eucariotas (Fig. 1.14): Contiene un núcleo distinto rodeado por una membrana nuclear, su ADN genómico está organizado en 16 cromosomas lineales, y su citoplasma contiene un citoesqueleto y orgánulos subcelulares.

Las levaduras pueden crecer con facilidad en el laboratorio y pueden ser estudiadas bajo muchos de los mismos protocolos genéticos moleculares que han resultado satisfactorios con *E. coli*. Aunque las levaduras no se replican tan rápidamente como las bacterias, se dividen cada 2 horas y pueden crecer fácilmente dando lugar a colonias a partir de una sola célula. Las levaduras se pueden utilizar en variedad de manipulaciones genéticas similares a aquellas que se pueden realizar utilizando bacterias.

Estas características han hecho a las levaduras las células eucariotas más accesibles desde el punto de vista de la biología molecular. Las levaduras mutantes han resultado importantes para la comprensión de muchos procesos fundamentales en eucariotas, incluyendo la replicación del ADN, transcripción, procesamiento del ARN, ensamblaje de proteínas y la regulación de la división celular, tal y como discutiremos en capítulos siguientes. La unidad de la biología celular molecular se presenta clara debido al hecho de que los principios generales de la estructura y función celulares revelados por los estudios de las levaduras se pueden aplicar a todas las células eucariotas.

### *Caenorhabditis elegans*

Las levaduras unicelulares son modelos importantes para el estudio de las células eucariotas, pero entender el desarrollo de los organismos multicelulares

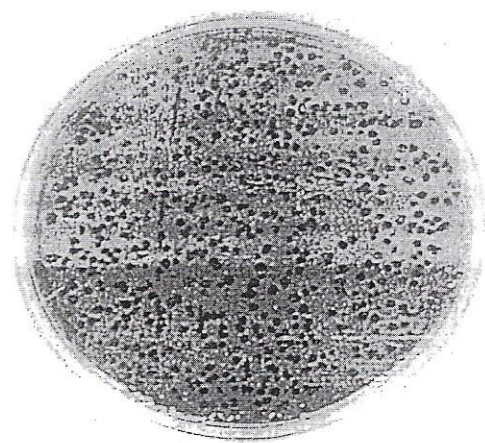


Figura 1.13 Colonias de bacterias. Fotografía de colonias de *E. coli* creciendo en la superficie de un medio de agar. (A. M. Siegelman/Visuals Unlimited.)

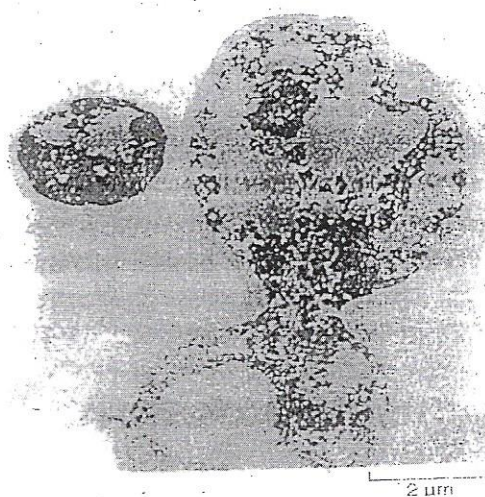
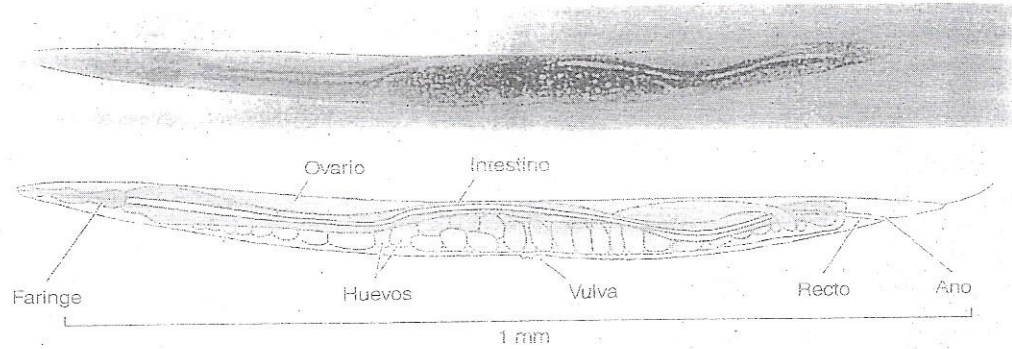


Figura 1.14 Micrografía electrónica de *Saccharomyces cerevisiae*. (David Scharf/Peter Arnold, Inc.)



Figura 1.15 *Caenorhabditis elegans*. (De J. E. Sulston y H. R. Horvitz, 1977. *Dev. Biol.* 56: 110.)



lares requiere los análisis experimentales de plantas y animales, organismos que son mucho más complejos. El nemátodo *Caenorhabditis elegans* (Fig. 1.15) posee diversas características notables que hacen que sea uno de los modelos más utilizados en los estudios de desarrollo animal y diferenciación celular.

Aunque el genoma de *C. elegans* (aproximadamente 100 millones de pares de bases) es mayor que los eucariotas unicelulares, es más simple y más manejable que los genomas de la mayoría de los animales. Su secuencia ha sido determinada por completo, revelando que el genoma de *C. elegans* contiene aproximadamente 19.000 genes —alrededor de tres veces más que el número de genes de levaduras, y un quinto del número de genes previsibles en humanos—. Biológicamente, *C. elegans* es también un organismo multicelular relativamente simple: Las lombrices adultas solamente se componen de 959 células somáticas, y de 1.000 a 2.000 células germinales. Además, *C. elegans* puede ser reproducida con facilidad y ser sometida a manipulaciones genéticas en el laboratorio.

La simplicidad de *C. elegans* ha permitido que el curso de su desarrollo se haya estudiado en detalle mediante observación microscópica. Estos análisis han trazado satisfactoriamente el origen embrionario y el linaje de todas las células en la lombriz adulta. Los estudios genéticos también han identificado algunas de las mutaciones responsables de anomalías del desarrollo, conduciendo al aislamiento y descripción de genes claves que controlan el desarrollo y diferenciación del nemátodo. Cabe destacar que se han encontrado similares genes que funcionan en animales complejos (incluyendo humanos), resultando *C. elegans* un importante modelo para los estudios del desarrollo animal.

### *Drosophila melanogaster*

Al igual que *C. elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (Fig. 1.16) ha sido un modelo de organismo crucial en la biología del desarrollo. El genoma de *Drosophila* es de 180 millones de pares de bases, mayor que el de *C. elegans*, pero el genoma de *Drosophila* sólo contiene unos 14.000 genes. Además, el corto ciclo de reproducción de *Drosophila* (unas 2 semanas) la convierte en un organismo muy útil para los experimentos genéticos. Muchos conceptos fundamentales de la genética —como la relación entre genes y cromosomas— se derivaron de los estudios en *Drosophila* a principios del siglo veinte (véase Cap. 4).

Los exhaustivos análisis genéticos en *Drosophila* han descubierto muchos de los genes que controlan el desarrollo y la diferenciación, siendo los métodos actuales de la biología molecular los que han permitido el análisis en detalle de las funciones de estos genes. Como consecuencia, los estudios de *Drosophila* han permitido avanzar en el entendimiento de los mecanismos moleculares que gobiernan el desarrollo animal, particularmente respecto a la formación del cuerpo de organismos multicelulares complejos. Al igual

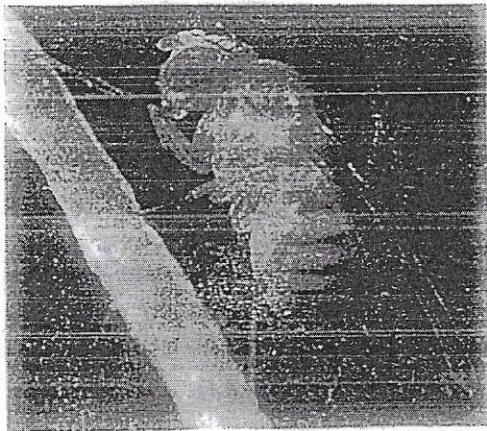


Figura 1.16 *Drosophila melanogaster*. (Fotografía realizada por David McIntyre.)



Figura 1.17 *Arabidopsis thaliana*.  
(Jeremy Burgess/Photo Researchers,  
Inc.)



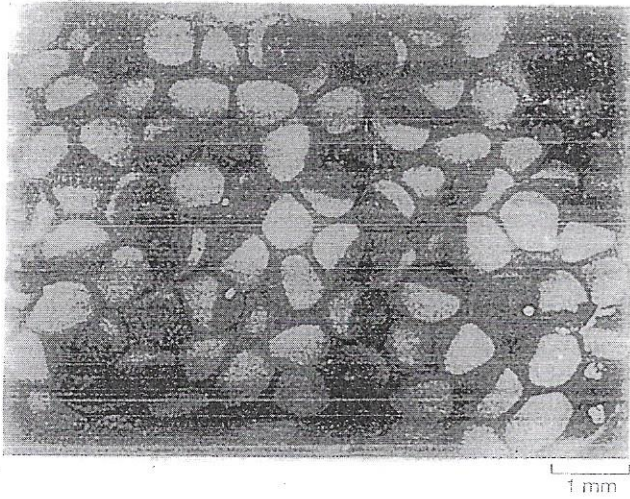


Figura 1.18 Huevos de la rana *Xenopus laevis*.  
(Cortesía de Michael Danilchik y Kimberly Ray.)

que están especializadas en la conducción de señales electroquímicas a larga distancia. En humanos, los axones de las células nerviosas pueden tener más de un metro de largo, y algunos invertebrados, como el calamar, tienen neuronas gigantes con axones de hasta 1 mm de diámetro. Debido a su estructura y función tan especializadas, estas neuronas gigantes han sido importantes modelos en el estudio del transporte de iones a través de la membrana, y del papel del citoesqueleto en el transporte de orgánulos citoplasmáticos.

La rana *Xenopus laevis* es un modelo importante para los estudios del desarrollo temprano de los vertebrados. Los huevos de *Xenopus* son normalmente grandes células, con un diámetro aproximado de 1 mm (Fig. 1.18). Debido a que estos huevos se desarrollan fuera de la madre, todas las etapas del desarrollo desde el huevo hasta el renacuajo se pueden estudiar con facilidad en el laboratorio. Además, los huevos de *Xenopus* se pueden obtener en grandes cantidades, facilitando el análisis bioquímico. Gracias a estos avances técnicos, se ha utilizado *Xenopus* ampliamente en estudios sobre el desarrollo biológico y ha proporcionado importantes descubrimientos en los mecanismos que controlan el desarrollo, diferenciación y división celular del embrión.

El pez cebra (Fig. 1.19) posee numerosas ventajas para los estudios genéticos del desarrollo de los vertebrados. Este pequeño pez es fácil de mantener en el laboratorio y se reproduce con rapidez. Además, los embriones se desarrollan fuera de la madre y son transparentes, por lo que las primeras etapas del desarrollo pueden ser observadas con claridad. Se han desarrollado métodos poderosos para facilitar el aislamiento de las mutaciones que afectan al desarrollo del pez cebra, consiguiendo la identificación de varios cientos de estas mutaciones. Ya que el pez cebra es un vertebrado de fácil estudio, promete ser el puente entre los humanos y los sistemas más simples de invertebrados, como *C. elegans* y *Drosophila*.

Entre los mamíferos, el ratón es el más manejable para los análisis genéticos, lo cual se facilitará con la reciente finalización de la secuenciación del genoma del ratón. Aunque las dificultades técnicas de estudio de la genética del ratón (comparada, p. ej., a la genética de las levaduras o *Drosophila*) son inmensas, se han identificado varias mutaciones que afectan al desarrollo del ratón. Más importantes aún son los recientes avances en la biología molecular que han permitido la producción de ratones obtenidos mediante ingeniería genética, en los que se han introducido genes mutantes específicos en la línea germinal del ratón, por lo que sus efectos en el desarrollo u otros aspectos de la función celular pueden ser estudiados en el contexto

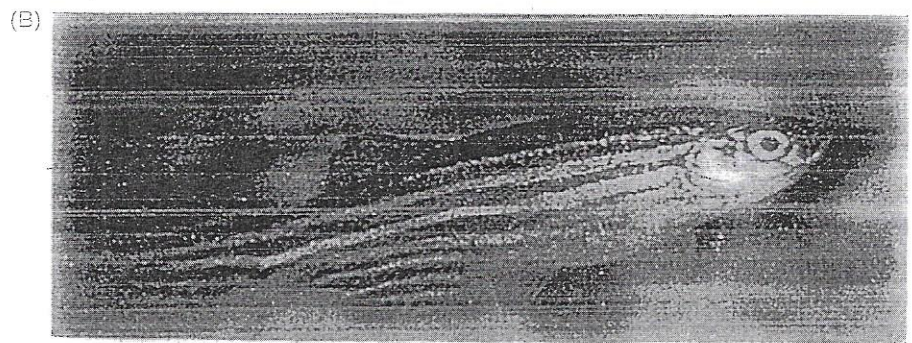
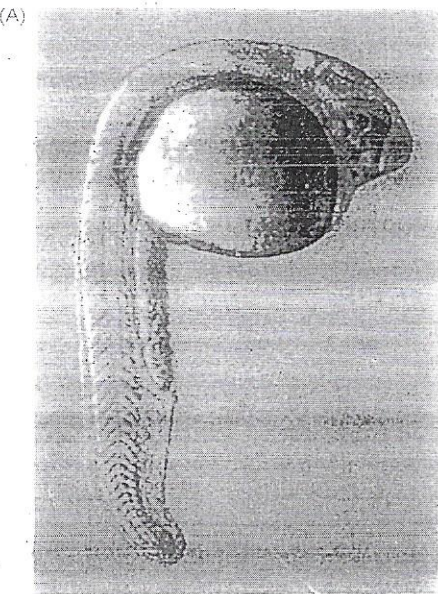


Figura 1.19. Pez cebra. (A) Embrión de 24 horas. (B) Pez adulto. (A, cortesía de Charles Kimmel, University of Oregon; © Max Gibbs/OSF/Photolibrary.com.)





**Figura 1.20 El ratón como modelo del desarrollo humano.** Niño y ratón muestran defectos similares en la pigmentación (piebaldismo) como resultado de mutaciones en un gen necesario para la migración normal de los melanocitos (células responsables de la pigmentación de la piel) durante el desarrollo embrionario. (Cortesía de R. A. Fleischman, Markey Cancer Center, University of Kentucky.)

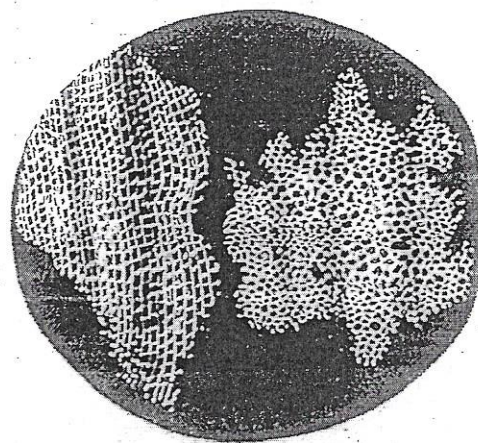
del animal completo. La manejabilidad del ratón como modelo del desarrollo humano se corresponde con el hecho de que las mutaciones en genes homólogos dan lugar a defectos del desarrollo similares en ambas especies; el piebaldismo es un ejemplo claro (Fig. 1.20).

## Instrumentos de la biología celular

Como en todas las ciencias experimentales, la investigación en biología celular depende de los métodos de laboratorio que se puedan utilizar para estudiar la estructura y función celulares. Muchos avances importantes sobre el funcionamiento de las células han conducido directamente al desarrollo de nuevos métodos de investigación. La apreciación de los instrumentos experimentales disponibles para el biólogo celular resulta por tanto crítica para entender el estado actual y futuro de las direcciones de este área de la ciencia que se mueve con tanta rapidez. Algunos de los métodos generales importantes de la biología celular están descritos en secciones siguientes. Otros avances experimentales, que incluyen los métodos de la bioquímica y de la biología molecular, se discutirán en capítulos posteriores.

### Microscopia óptica

Debido a que la mayoría de las células son demasiado pequeñas para ser observadas a simple vista, el estudio de las células ha dependido primordialmente del uso del microscopio. Es más, el descubrimiento real de las células surgió del desarrollo del microscopio: Robert Hooke fue el primero que acuñó el término de «célula» siguiendo sus observaciones de una pieza de corcho con un simple microscopio óptico en 1665 (Fig. 1.21). Utilizando un microscopio que ampliaba los objetos hasta 300 veces su tamaño real, Antony van Leeuwenhoek, en 1670 y años posteriores, fue capaz de observar diferentes tipos de células, incluyendo espermatozoides, glóbulos rojos y bacterias. La propuesta de la teoría celular planteada por Matthias Schleiden y Theodor Schwann en 1838 debe tomarse como el nacimiento de la biología celular contemporánea. Los estudios microscópicos de tejido vegetal por Schleiden y los de tejido animal por Schwann condujeron a la misma conclusión: Todos los organismos están compuestos por células. Más tarde, se reconoció que las células no se forman *de novo* sino que emergen únicamen-



**Figura 1.21 Estructura celular del corcho.** Una reproducción de un dibujo de Robert Hooke de una lámina de corcho examinada con un microscopio óptico. Las «células» que Hooke observó fueron en realidad las paredes celulares que quedan cuando las células han muerto hace tiempo.



te por la división de las células preexistentes. Por tanto, la célula consiguió su actual reconocimiento como la unidad fundamental de todos los organismos vivos debido a las observaciones realizadas con el microscopio óptico.

El microscopio óptico continúa siendo un instrumento básico para los biólogos celulares, que con mejoras técnicas permiten la visualización de los detalles aumentados de la estructura celular. Los microscopios ópticos contemporáneos son capaces de aumentar los objetos hasta unas mil veces. Dado que la mayoría de las células se encuentran entre 1 y 100  $\mu\text{m}$  de diámetro, pueden ser observadas en el microscopio óptico, como pueden ser también algunos de los orgánulos subcelulares, como el núcleo, los cloroplastos y las mitocondrias. Sin embargo, el microscopio óptico no es lo suficientemente poderoso para observar pequeños detalles de la estructura celular, cuya resolución —la capacidad de un microscopio para distinguir objetos separados por pequeñas distancias— es mucho más importante que el aumento. Las imágenes se pueden aumentar tanto como se desee (p. ej., mediante la proyección en una pantalla grande), pero tal aumento no incrementa el nivel de detalle que se puede observar.

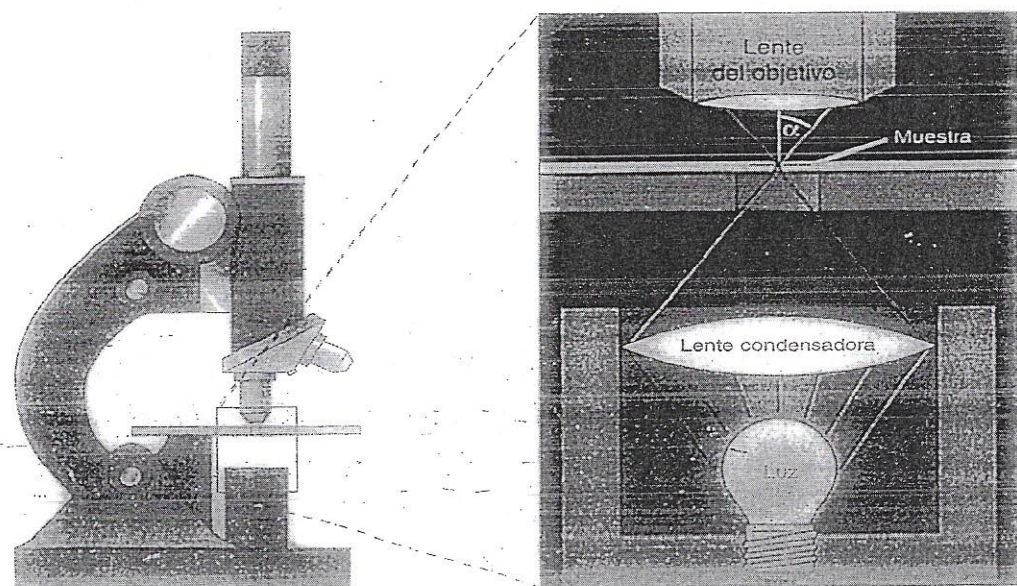
El límite de resolución del microscopio óptico es aproximadamente de 0,2  $\mu\text{m}$ ; dos objetos separados por menos de esta distancia aparecen como una única imagen, en lugar de distinguirse una de otra. Esta limitación teórica de la microscopia óptica está determinada por dos factores —la longitud de onda ( $\lambda$ ) de la luz visible y el poder de captación de luz de las lentes del microscopio (apertura numérica, AN)— de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Resolución} = \frac{0,61\lambda}{AN}$$

La longitud de onda de la luz visible es de 0,4 a 0,7  $\mu\text{m}$ , por lo que el valor de  $\lambda$  se calcula en 0,5  $\mu\text{m}$  para el microscopio óptico. La apertura numérica puede preverse como el tamaño del cono de luz que entra en la lente del microscopio después de pasar a través de la muestra (Fig. 1.22). Esto se obtiene de la ecuación

$$AN = n \sin \alpha$$

donde  $n$  es el índice de refracción del medio a través del cual la luz viaja entre la muestra y la lente. El valor de  $n$  para el aire es de 1,0, pero puede aumentar hasta un máximo aproximado de 1,4 utilizando una lente inmersa en aceite para ver la muestra a través de una gota de aceite. El ángulo  $\alpha$



**Figura 1.22 Apertura numérica.** La luz se enfoca en la muestra mediante la lente condensadora y se recoge en la lente del objetivo del microscopio. La apertura numérica está determinada por el ángulo del cono de la luz que entra en el objetivo de la lente ( $\alpha$ ) y por el índice de refracción del medio (normalmente agua o aceite) entre la lente y la muestra.



corresponde a la mitad de la anchura del cono de luz recogido por la lente. El valor máximo de  $\alpha$  es de  $90^\circ$ , en el que el  $\text{sen } \alpha = 1$ , por lo que el valor más alto de la apertura numérica es de 1,4.

El límite teórico de resolución del microscopio óptico se puede por tanto calcular de la siguiente forma:

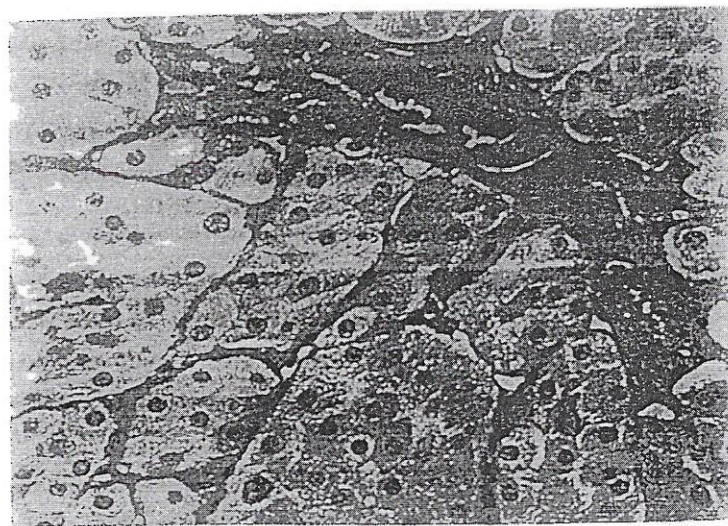
$$\text{Resolución} = \frac{0,61 \times 0,5}{1,4} = 0,22 \mu\text{m}$$

Los microscopios capaces de llegar a este nivel de resolución se consiguieron fabricar a finales del siglo XIX; no se pueden esperar en estos aspectos nuevas mejoras de la microscopía óptica.

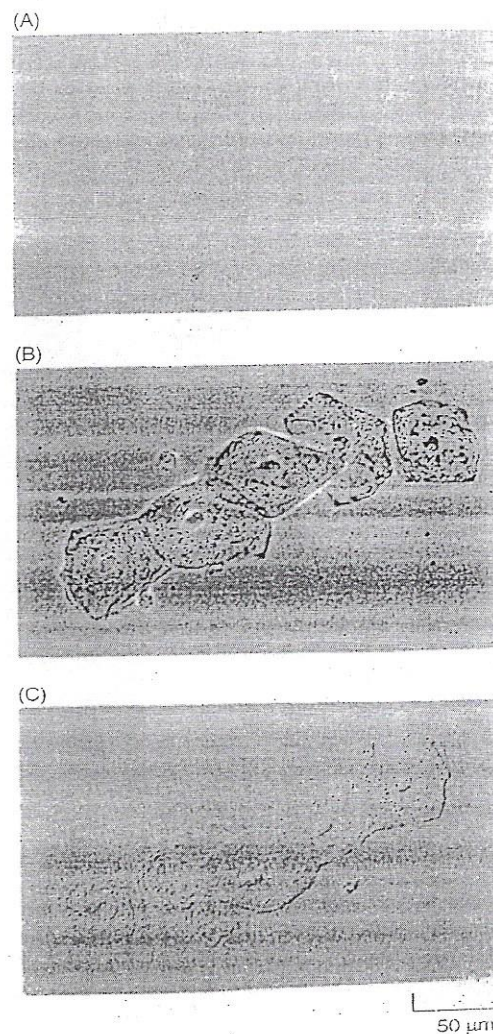
Rutinariamente se utilizan diferentes tipos de microscopía óptica para estudiar varios aspectos de la estructura celular. El más simple es el microscopio de campo luminoso, en el que la luz pasa directamente a través de la célula y en el que la habilidad para distinguir las diferentes partes de la célula depende del contraste que se obtiene de la absorción de la luz visible por los componentes celulares. En muchos casos, las células se tiñen con tintes que reaccionan con proteínas y ácidos nucleicos para resaltar el contraste entre las diferentes partes de la célula. Antes de teñir, las muestras son normalmente tratadas con fijadores (como el alcohol, ácido acético o formaldehído) para estabilizar y conservar sus estructuras. El examen de los tejidos fijados y teñidos mediante el microscopio de campo luminoso es la práctica estándar para analizar las muestras de tejidos en los laboratorios histológicos (Fig. 1.23). Tales procedimientos de tinción matan, no obstante, a las células y por tanto no resultan apropiados para muchos experimentos en donde se desea una observación de células vivas.

Sin la tinción, el paso directo de la luz no proporciona el contraste suficiente para distinguir muchas de las partes de la célula, limitando la utilidad del microscopio de campo luminoso. No obstante, las variaciones ópticas del microscopio óptico se pueden utilizar para potenciar el contraste entre las ondas de luz que pasan a través de regiones de la célula con diferentes densidades. Los dos métodos más comunes para la visualización de células vivas son la microscopía de contraste de fases y la microscopía de interferencia-contraste diferencial (Fig. 1.24). Los dos tipos de microscopía utilizan sistemas ópticos que convierten las variaciones de densidad o grosor entre las diferentes partes de la célula en diferencias de contraste que se pueden apreciar en la imagen final. En la microscopía de campo luminoso, las estructuras transparentes (como el núcleo) presentan poco contraste porque absorben pobremente la luz. Sin embargo, la luz disminuye cuando pasa a través de estas estructuras, por lo que su fase se altera en comparación a la luz que ha pasado a través del citoplasma que las rodea. Las microscopías de contraste de fases y de interferencia-contraste diferencial convierten estas diferencias de fase en diferencias de contraste, mejorando de ese modo las imágenes de las células vivas sin teñir.

El poder del microscopio óptico se ha extendido mediante el uso de cámaras de vídeo y ordenadores para el análisis y procesamiento de imágenes. Tales sistemas de procesamiento de imágenes pueden potenciar sus-



**Figura 1.23 Micrografía de campo luminoso de tejido teñido.** Sección de un tumor renal benigno. (G. W. Willis/Visuals Unlimited.)



**Figura 1.24 Observación microscópica de células vivas.** Microfotografías de células bucales humanas obtenidas con (A) campo luminoso, (B) contraste de fases y (C) microscopía de interferencia-contraste diferencial. (Cortesía de Mort Abramowitz, Olympus America, Inc.)



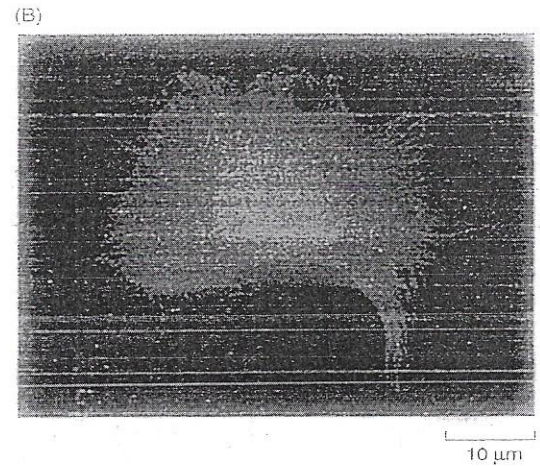
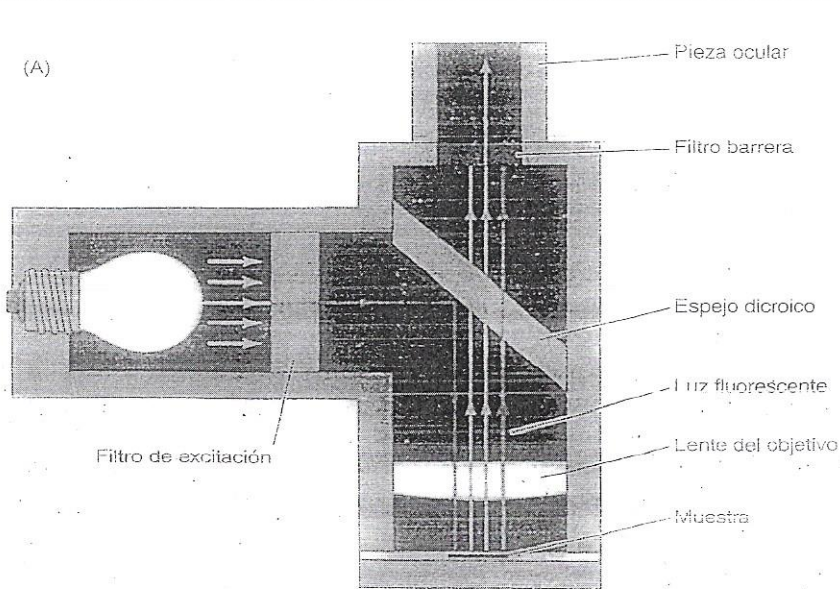


**Figura 1.25 Microscopia de interferencia-contraste diferencial potenciada con vídeo.** El procesamiento de una imagen electrónica permite la visualización de microtúbulos individuales. (Cortesía de E. D. Salmon, University of North Carolina, Chapel Hill.)

tancialmente el contraste de las imágenes obtenidas con el microscopio óptico, permitiendo la visualización de objetos pequeños que de otra forma no hubieran podido ser detectados. Por ejemplo, la microscopia de interferencia-contraste diferencial-vídeo potenciada ha permitido la visualización del movimiento de los orgánulos a lo largo de los microtúbulos, que son filamentos de proteínas citoesqueléticas con un diámetro de tan solo  $0,025 \mu\text{m}$  (Fig. 1.25). Sin embargo, esta potenciación no consigue llegar al límite teórico de resolución del microscopio óptico, aproximadamente  $0,2 \mu\text{m}$ . Por tanto, aunque la potenciación por vídeo permite la visualización de los microtúbulos, aparecen como imágenes turbias a menos de  $0,2 \mu\text{m}$  de diámetro y un microtúbulo individual no puede ser distinguido de un haz de estructuras adyacentes.

La microscopia óptica se ha llevado al nivel del análisis molecular mediante métodos que marcan moléculas específicas y que pueden ser visualizadas dentro de las células. Genes específicos o transcritos de ARN se pueden detectar mediante hibridación con sondas de ácidos nucleicos de secuencia complementaria, y las proteínas pueden detectarse usando anticuerpos apropiados (véase Cap. 4). Tanto las sondas de ácidos nucleicos como los anticuerpos se pueden señalar con variedad de marcadores que permitan su visualización en el microscopio óptico, permitiendo determinar la localización de moléculas específicas en células individuales.

La microscopia de fluorescencia se utiliza extensamente y es un método muy sensible para el estudio de la distribución intracelular de las moléculas (Fig. 1.26). Se utiliza una tinción fluorescente para marcar las moléculas que interesan tanto en células fijadas o vivas. La tinción fluorescente es una molécula que absorbe la luz a una longitud de onda y emite luz a una segunda longitud de onda. Esta fluorescencia se detecta mediante la iluminación de la muestra con una luz de una longitud de onda que excita al tinte fluorescente, usándose más tarde filtros apropiados para detectar la longitud de



**Figura 1.26 Microscopia de fluorescencia.** (A) La luz pasa a través de un filtro de excitación para seleccionar la luz de la longitud de onda (p. ej., azul) que excita el tinte fluorescente. Después un espejo dicróico desvía la luz excitada hacia la muestra. La luz fluorescente emitida por la muestra (p. ej., verde) pasa a través de un espejo dicróico y un segundo filtro (el filtro barrera) para seleccionar la luz de longitud de onda emitida por el tinte. (B) Micrografía fluorescente de un pulmón de tritón en el que el ADN está teñido de azul y los microtúbulos en el citoplasma de verde. (Conly S. Rieder/Biological Photo Service.)



onda específica que emite el tinte. La microscopía fluorescente se puede utilizar para estudiar una gran variedad de moléculas dentro de las células. Una de las aplicaciones más frecuentes es la señalización de anticuerpos con tintes fluorescentes dirigidos contra una proteína específica, de manera que se pueda determinar la distribución intracelular de la proteína.

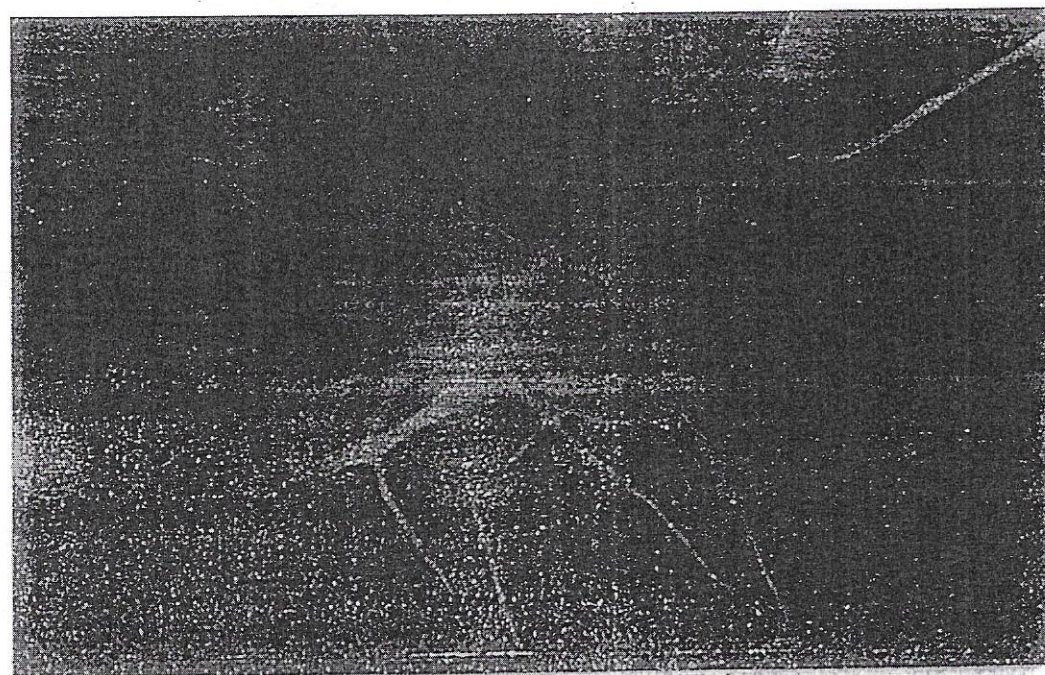
Un avance reciente importante en la microscopía de fluorescencia ha sido el empleo de la proteína verde fluorescente (GFP: *green fluorescent protein*) de las medusas para visualizar proteínas en el interior de células vivas. La GFP puede fusionarse con cualquier proteína de interés mediante métodos estándar de ADN recombinante, y la proteína marcada con GFP puede a continuación introducirse en células y detectarse por microscopía de fluorescencia, sin necesidad de fijación y tinción de las células tal y como se necesitaría para la detección de proteínas mediante el uso de anticuerpos. Gracias a su versatilidad, el uso de GFP está muy extendido en biología celular, y se ha empleado para estudiar la localización de una amplia gama de proteínas en el interior de células vivas (Fig. 1.27). Muchas proteínas fluorescentes relacionadas con emisiones azules, amarillas o rojas también se encuentran disponibles, expandiendo aún más la utilidad de esta técnica.

Se han desarrollado una variedad de métodos para seguir el movimiento y las interacciones de proteínas marcadas con GFP en el interior de células vivas. Un método ampliamente utilizado para estudiar los movimientos de proteínas marcadas con GFP es la recuperación de fluorescencia tras el fotoblanqueado (FRAP: *fluorescent recovery after photobleaching*) (Fig. 1.28). En esta técnica, una región de interés en una célula que expresa una proteína marcada con GFP es blanqueada mediante la exposición a una luz de alta intensidad. La fluorescencia se recupera a lo largo del tiempo debido al movimiento de moléculas marcadas con GFP no blanqueadas hacia la región blanqueada, permitiendo determinar la tasa a la que la proteína se mueve en el interior de la célula.

Las interacciones de dos proteínas entre sí en el interior de una célula pueden analizarse mediante una técnica denominada transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET: *fluorescence resonance energy*

■ Los nanocristales semiconductores (denominados puntos cuánticos) se emplean cada vez más en lugar de los marcadores fluorescentes en muchas aplicaciones dentro de la microscopía de fluorescencia. Los puntos cuánticos fluorescen con mayor intensidad y son más estables que los marcadores fluorescentes tradicionales.

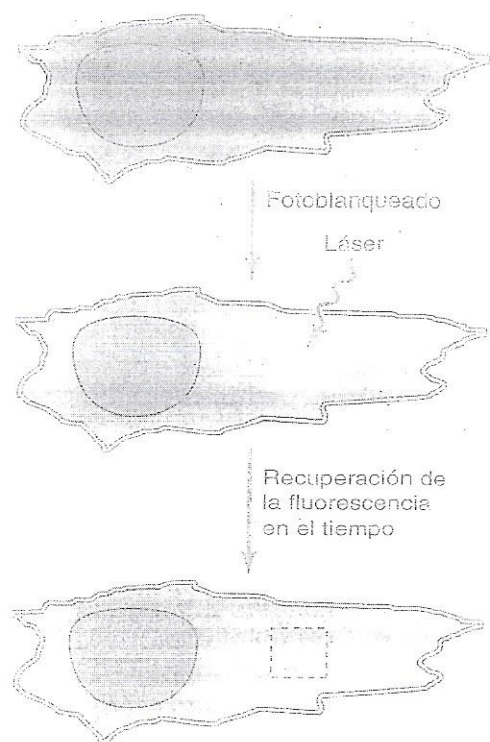
■ La GFP se deriva de la medusa del Pacífico *Aequoria victoria*. Las proteínas que fluorescen en diferentes colores han sido aisladas a partir de otros organismos marinos.



5 µm

Figura 1.27 Microscopía de fluorescencia de una proteína marcada con GFP. Una proteína asociada a microtúbulos fusionada con GFP fue introducida en neuronas murinas en cultivo y visualizada mediante microscopía de fluorescencia. Los núcleos se tiñeron de azul. (De A. Cariboni, 2004. *Nature Cell Biol.* 6:929.)

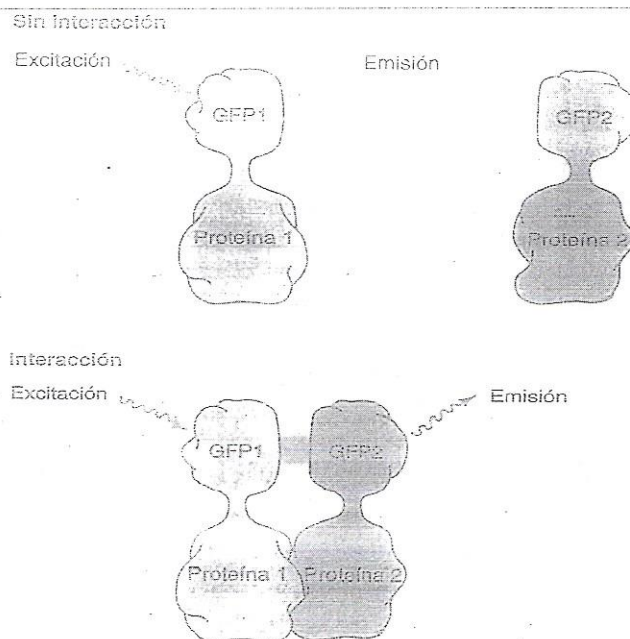




**Figura 1.28 Recuperación de la fluorescencia tras fotoblanqueado (FRAP).** Una región de una célula que expresa una proteína marcada con GFP es blanqueada mediante láser. La recuperación de la fluorescencia a lo largo del tiempo a medida que moléculas marcadas con GFP no blanqueado difunden hacia la región blanqueada. La tasa de recuperación de la fluorescencia proporciona, por tanto, una medida de la tasa de movimiento de proteína en el interior celular.

transferencia (Fig. 1.29). En los experimentos FRET, las dos proteínas de interés se unen a diferentes marcadores fluorescentes, como dos variantes de la GFP. Las variantes de GFP son seleccionadas para absorber y emitir luz de diferentes longitudes de onda, de forma que la luz emitida por una de las variantes GFP excita a la segunda. La interacción entre dos proteínas puede entonces detectarse, mediante la iluminación de la célula con una luz de longitud de onda que excita la primera variante de GFP y analizar la longitud de onda de la luz emitida. Si las proteínas unidas a estas variantes de GFP interaccionan en el interior de la célula, las moléculas fluorescentes se encontrarán cerca y la luz emitida por la primera variante GFP excitará a la segunda variante, dando como resultado la emisión de una luz de longitud de onda característica de la segunda variante GFP.

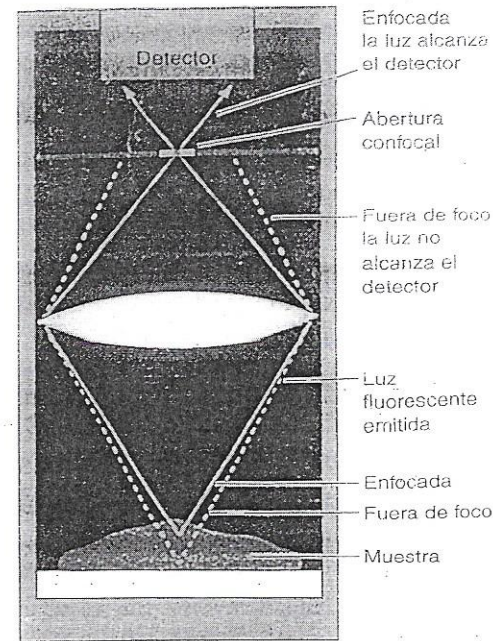
Las imágenes obtenidas por microscopía de fluorescencia convencional son borrosas como consecuencia de la fluorescencia no enfocada. Estas imágenes pueden ser mejoradas mediante un tratamiento informático denominado desconvolución de imágenes, en el que un ordenador analiza las imágenes obtenidas de diferentes profundidades de foco y genera una imagen más nítida como cabría esperar a partir de un único punto focal. Alternativamente, la microscopía confocal permite la obtención de imágenes de contraste y detalle incrementados, mediante el análisis de la fluorescencia de un solo punto de la muestra. Un pequeño punto de luz, normalmente



**Figura 1.29 Transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET).** Se fusionan dos proteínas a dos variantes diferentes de la GFP (GFP1 y GFP2) con distintas longitudes de onda para la excitación y la emisión, seleccionadas de tal forma que la luz emitida por GFP1 excita a GFP2. A continuación, las células son iluminadas con una luz de longitud de onda tal que excita a GFP1. Si las proteínas no interaccionan, la luz emitida por GFP1 será detectada. Sin embargo, si las proteínas sí interaccionan, GFP1 excitará a GFP2, y la luz emitida por GFP2 será detectada.



**Figura 1.30 Microscopia confocal.** Un punto de luz es enfocado en la muestra a una distancia determinada, y la luz fluorescente emitida se recoge en un detector. Antes de alcanzar el detector, la luz fluorescente emitida por la muestra debe pasar a través de una apertura confocal situada en el punto en que la luz emitida desde la distancia elegida de la muestra se enfoca. Como resultado, solamente se detecta la luz enfocada emitida desde la distancia elegida de la muestra.

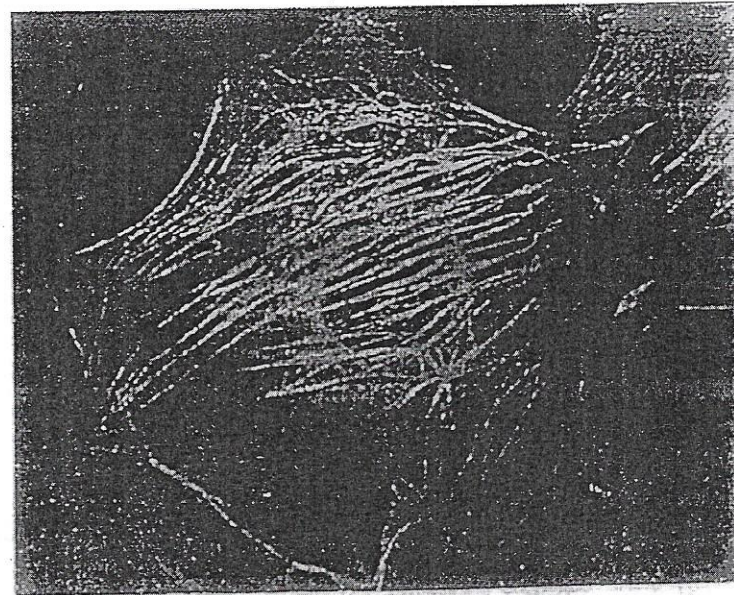


producido por un láser, se enfoca en la muestra a una profundidad determinada. La luz fluorescente emitida se recoge utilizando un detector, como una videocámara. Antes de que la luz emitida alcance el detector, ésta debe atravesar el agujero de una aguja (llamado apertura focal) situada precisamente en el punto donde la luz emitida desde la profundidad elegida de la muestra es enfocada (Fig. 1.30). Por tanto, solamente la luz emitida desde el plano de enfoque es capaz de alcanzar el detector. El barrido a lo largo de la muestra genera una imagen del plano de enfoque en dos dimensiones, una imagen mucho más detallada que la obtenida con la microscopia fluorescente habitual (Fig. 1.31). Además, es posible fundir una serie de imágenes obtenidas a distintas profundidades para reconstruir una imagen tridimensional de la muestra.

La microscopia de excitación multifotónica es una alternativa a la microscopia tridimensional que también puede aplicarse a las células vivas. La muestra se ilumina con una luz de una longitud de onda tal que la excitación del tinte fluorescente requiera la absorción simultánea de dos o más fotones (Fig. 1.32). La probabilidad de que los dos fotones exciten simultáneamente al tinte fluorescente solamente es importante en el punto de la muestra en el que el láser está enfocado, de tal manera que la fluorescencia sólo se emite desde el plano de enfoque de la luz. Esta potente excitación proporciona automáticamente una solución tridimensional, sin necesidad de que la luz emitida atraviese la apertura de una aguja, como en la microscopia confocal. Además, la localización de la excitación reduce el daño de la muestra, permitiendo imágenes tridimensionales de células vivas.

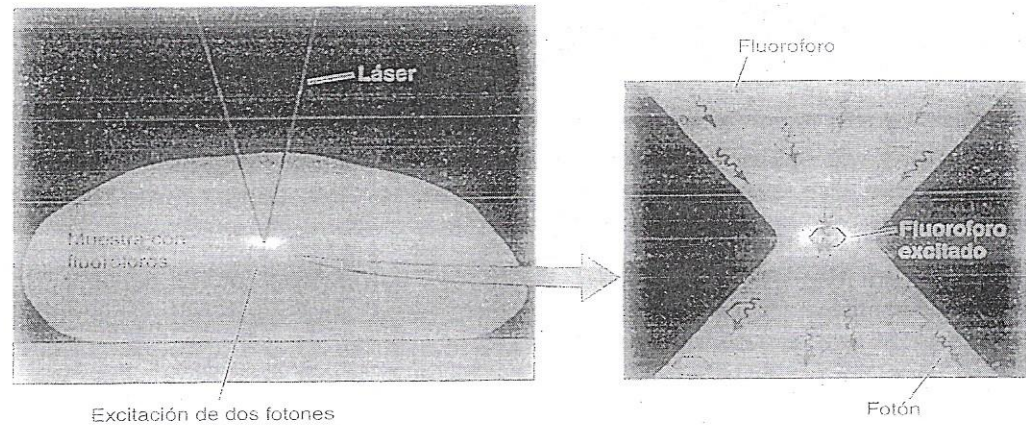
### Microscopia electrónica

Debido a la limitada resolución del microscopio óptico, el análisis de los detalles de la estructura celular ha necesitado una técnica de microscopia mucho más poderosa, llamada microscopia electrónica, que fue desarrollada en los años 1930 y aplicada por primera vez a muestras biológicas por Albert Claude, Keith Porter y George Palade en los años 1940 y 1950. El microscopio electrónico puede alcanzar una resolución mucho mayor que la obtenida con el microscopio óptico puesto que la longitud de onda de los electrones es menor que la de la luz. La longitud de onda de los electrones en un microscopio electrónico puede ser de hasta 0,004 nm —alrededor de 100.000 veces más corta que la longitud de onda de la luz visible—. Teóricamente, esta longitud de onda puede alcanzar una resolución de 0,002 nm, pero tal resolución no ha podido obtenerse en la práctica, puesto que no solo está determinada por la longitud de onda sino también por la apertura numérica de la lente del microscopio. La apertura numérica es un factor limitante para la microscopia electrónica puesto que las propiedades inherentes de las lentes electromagnéticas limitan sus ángulos de apertura alrededor de 0,5 grados, correspondientes a aperturas numéricas de solo 0,01. Por tanto,



**Figura 1.31 Micrografía confocal de células humanas.** Microtúbulos y filamentos de actina aparecen teñidos con colorantes fluorescentes rojo y verde, respectivamente. (K. G. Murti/Visuals Unlimited.)





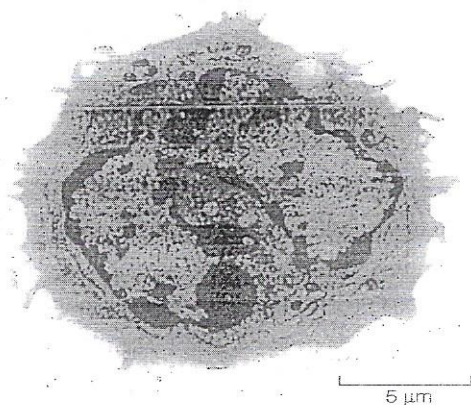
**Figura 1.32 Microscopía por excitación de dos fotones.** Se requiere la absorción simultánea de dos fotones para excitar el tinte fluorescente. Esto sólo sucede en el punto de la muestra donde se enfoca la luz, de tal forma que la luz fluorescente sólo se emite desde la distancia elegida de la muestra.

bajo condiciones óptimas, el poder de resolución del microscopio electrónico es aproximadamente de 0,2 nm. Además, la resolución que se puede obtener con muestras biológicas está limitada por la falta de contraste inherente. En consecuencia, en muestras biológicas el límite práctico de resolución para el microscopio electrónico es desde 1 a 2 nm. Aunque esta resolución es mucho menor que la predicha por la longitud de onda de los electrones, representa una mejora de más de cien veces del poder de resolución del microscopio óptico.

En el estudio de las células se utilizan dos tipos de microscopía electrónica —transmisión y barrido—. En principio, la microscopía electrónica de transmisión es similar a la observación de células teñidas con sales de metales pesados, que proporcionan contraste mediante los electrones dispersos. Un haz de electrones pasa a través de la muestra y se enfoca para formar una imagen en una pantalla fluorescente. Los electrones que chocan con un ión de metal pesado cuando pasan por la muestra se reflejan y no contribuyen a la imagen final, de tal forma que las zonas teñidas de la muestra aparecen oscuras.

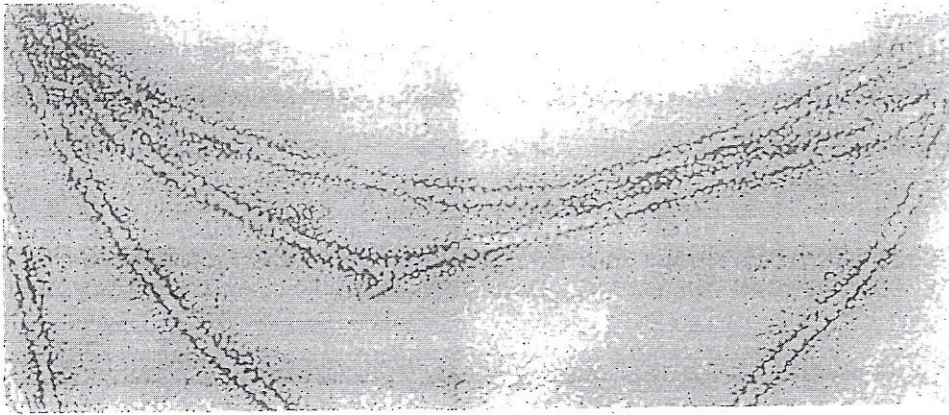
Las muestras que se van a analizar por microscopía de transmisión de electrones se pueden preparar con tintes positivos o negativos. En la tinción positiva, las muestras de tejido se cortan en secciones finas y se tiñen con sales de metales pesados (como el tetróxido de osmio, acetato de uranilo y citrato de plomo) que reaccionan con lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Estos iones de metales pesados se unen a gran variedad de estructuras celulares, que aparecen oscuras en la imagen final (Fig. 1.33). Los procedimientos de tinción positiva también se pueden utilizar para identificar macromoléculas específicas dentro de las células. Por ejemplo, los anticuerpos marcados con metales pesados densos en electrones (como partículas de oro) se utilizan con frecuencia para determinar la localización subcelular de proteínas específicas con el microscopio electrónico. Este método es similar al uso de anticuerpos marcados con tintes fluorescentes en la microscopía fluorescente. Las vistas tridimensionales de estructuras con resoluciones de 2-10 nm también pueden obtenerse empleando la técnica de tomografía electrónica, que genera imágenes tridimensionales mediante análisis informático de múltiples imágenes bidimensionales obtenidas a partir de una gama de vistas desde distintas direcciones.

La tinción negativa resulta útil para la visualización de estructuras biológicas intactas, como las bacterias, los orgánulos subcelulares aislados, y ma-



**Figura 1.33 Tinción positiva.** Micrografía de transmisión de electrones de un glóbulo blanco teñido positivamente. (Don W. Fawcett/Visuals Unlimited.)



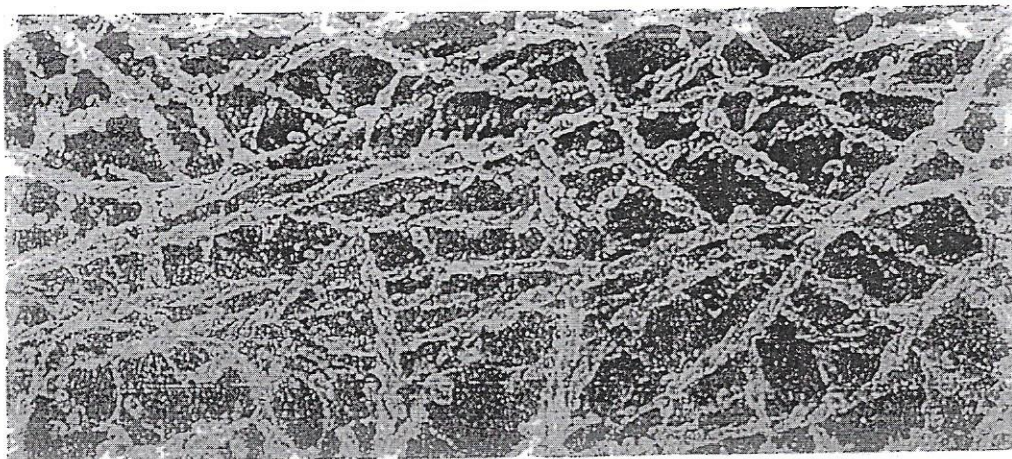


**Figura 1.34 Tinción negativa.** Micrografía de transmisión de electrones de filamentos de actina teñidos negativamente. (Cortesía de Roger Craig, University of Massachusetts Medical Center.)

cromoléculas (Fig. 1.34). En este método, la muestra biológica se deposita en una lámina, permitiendo que una gota de metal pesado rodee su superficie. La muestra sin teñir se rodea con una lámina densa en electrones, produciendo una imagen en la que la muestra aparece clara en contra de un fondo oscuro.

El sombreado de metal es otra técnica que se utiliza para visualizar la superficie de estructuras subcelulares aisladas o macromoléculas en el microscopio de transmisión de electrones (Fig. 1.35). La muestra se cubre con una fina capa de metal evaporado, como el platino. Se pulveriza el metal en la muestra desde un determinado ángulo, de tal manera que las superficies de la muestra que se encuentran de frente al pulverizador de moléculas de metal evaporadas se cubren más que las otras. Esta diferencia de envoltura crea un efecto de sombra, dando a la muestra una apariencia tridimensional en las micrografías electrónicas.

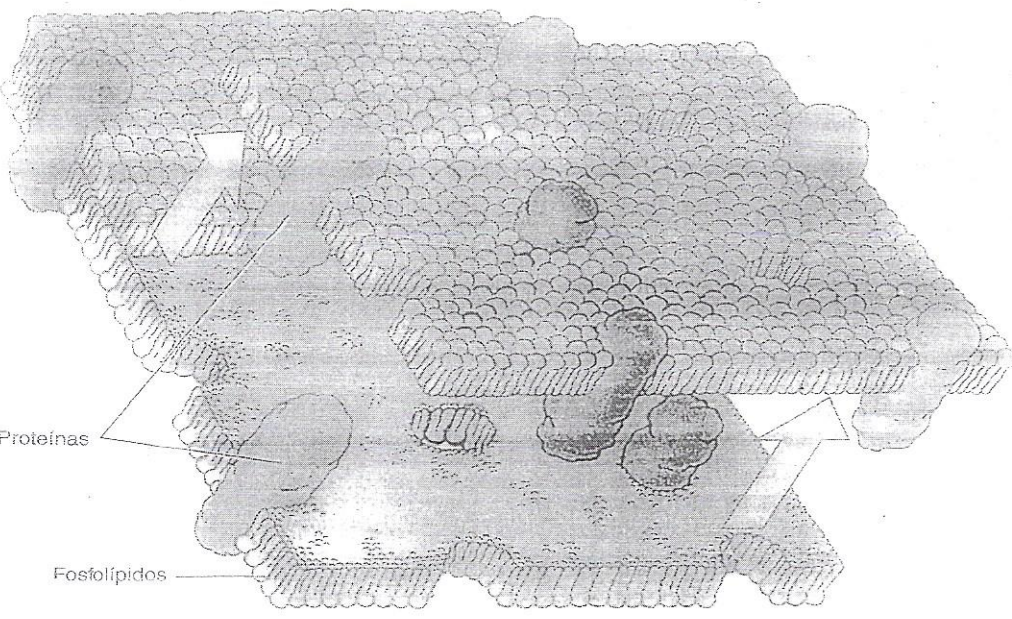
La preparación de las muestras mediante la separación por congelación o criofractura, en combinación con el sombreado de metal, ha resultado particularmente importante en los estudios de la estructura de la membrana. Las muestras se congelan en nitrógeno líquido (a  $-196^{\circ}\text{C}$ ) y se separan con el filo de un bisturí. El proceso con frecuencia separa la bicapa lipídica, mostrando las caras interiores de la membrana celular (Fig. 1.36). La muestra se sombrea más tarde con platino, y el material biológico se disuelve en ácido, produciéndose una réplica de metal de la superficie de la muestra. El examen de tales réplicas en el microscopio electrónico revela muchas alteraciones de la superficie, que corresponden a las proteínas que ocupan la bicapa lipídica. Una variación de la separación por congelación llamada grabado



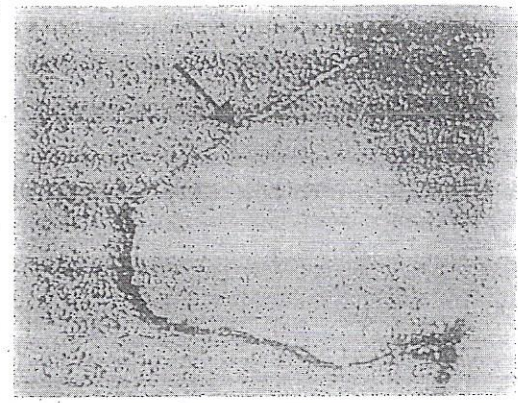
**Figura 1.35 Sombreado de metal.** Micrografía electrónica de filamentos de actina/miosina del citoesqueleto preparada mediante sombreado de metal. (Don W. Fawcett, J. Heuser/Photo Researchers, Inc.)



(A)



(B)



**Figura 1.36 Separación por congelación.** (A) La separación por congelación divide la bicapa lipídica, dejando las proteínas embebidas en la membrana asociadas a una de las dos partes de la membrana. (B) Micrografía de las membranas plasmáticas de dos células adyacentes separadas por congelación. Las proteínas que cubren la bicapa aparecen como partículas intermembranas (flecha). (Don W. Fawcett/Photo Researchers, Inc.)

#### Animación web

##### Fraccionamiento celular

Una vez rotas las células por sonicación, sus constituyentes subcelulares son fraccionados mediante diferentes tipos de centrifugación.

por congelación permite la observación de las superficies externas de las membranas celulares además de sus caras internas.

El segundo tipo de microscopia electrónica, la microscopia electrónica de barrido, se utiliza para obtener una imagen tridimensional de las células (Fig. 1.37). En la microscopia electrónica de barrido el haz de electrones no pasa a través de la muestra. En su lugar, la superficie de la célula se recubre de un metal pesado, y se utiliza un haz de electrones que barre toda la muestra. Los electrones aislados o emitidos por la superficie de la muestra se recogen para generar una imagen tridimensional a la vez que el haz de electrones se mueve a lo largo de la célula. Debido a que la resolución de la microscopia electrónica de barrido solo es de unos 10 nm, su uso está restringido al estudio de células completas en lugar de suborgánulos celulares o macromoléculas.

#### Separación subcelular

Aunque el microscopio electrónico ha permitido una observación detallada de la estructura celular, la microscopia en exclusiva no resulta suficiente para definir las funciones de los numerosos componentes de las células eucariotas. Para contestar muchas de las preguntas que atañen a la función de los orgánulos celulares, ha sido necesario aislar a los orgánulos de las células eucariotas de forma que puedan utilizarse para estudios bioquímicos. Normalmente, esto se realiza mediante la centrifugación diferencial —un método desarrollado por Albert Claude, Christian de Duve y sus colaboradores en los años 1940 y 1950 para separar los componentes de las células de acuerdo con sus tamaños y densidades.

El primer paso en la separación subcelular es la rotura de la membrana plasmática bajo condiciones que no destruyan los componentes internos de la célula. Se utilizan diferentes métodos, que incluyen la sonicación (exposición a sonidos de alta frecuencia), reducción en un homogeneizador mecánico, o el tratamiento con una batidora de alta velocidad. Todos estos procedimientos rompen la membrana plasmática y el retículo endoplasmático en



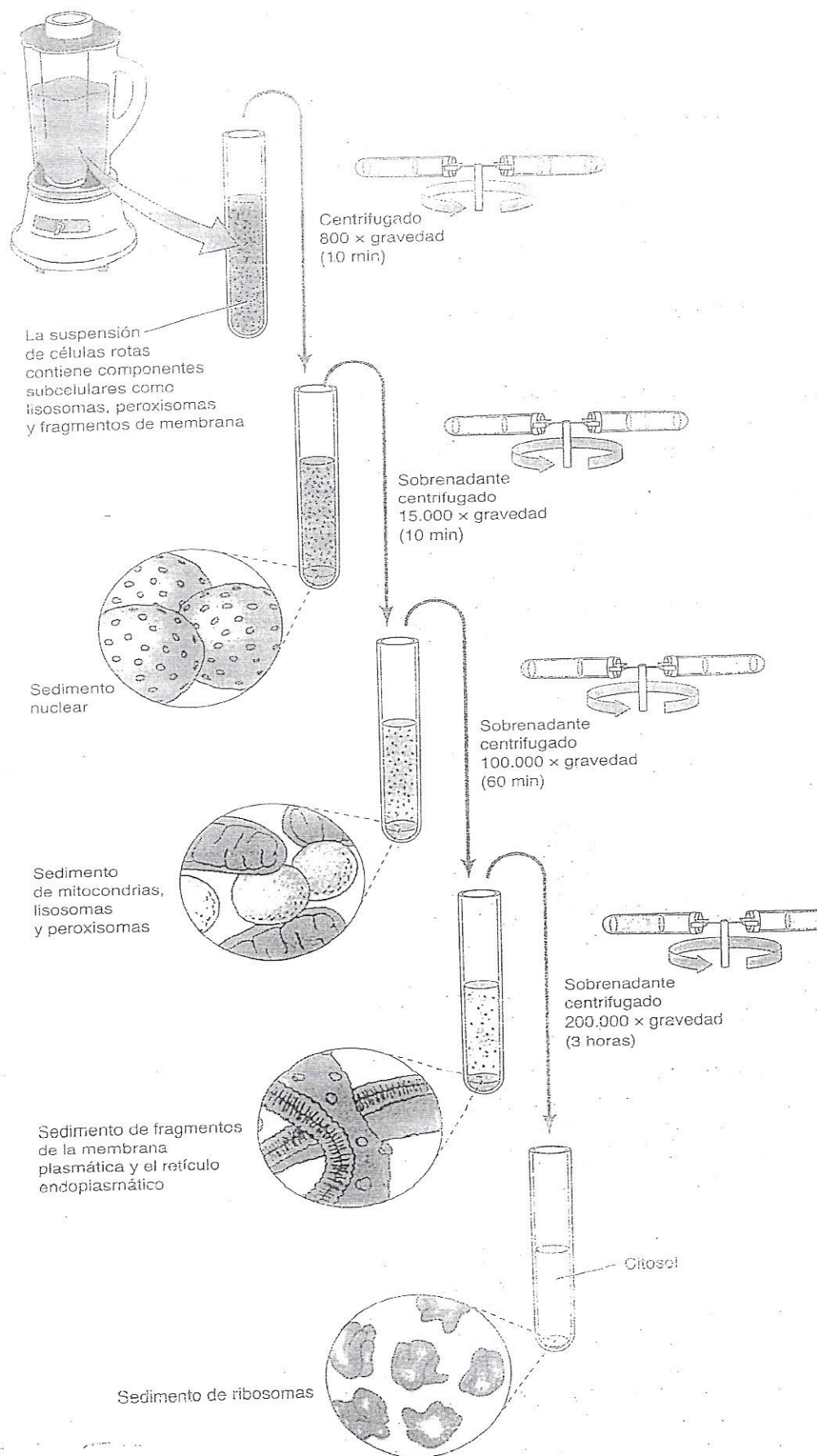
**Figura 1.37 Microscopia electrónica de barrido.** Micrografía electrónica de barrido de un macrófago. (David Phillips/Visuals Unlimited.)



**Figura 1.38 División subcelular.** Las células se disgregan (lisan) y los componentes subcelulares se separan mediante una serie de centrifugaciones que van aumentando de velocidad. Después de cada centrifugación, los orgánulos que han sedimentado en el fondo del tubo se recogen en forma de precipitado sólido. El sobrenadante (solución restante) se centrifuga a una mayor velocidad para sedimentar el siguiente orgánulo más grande.

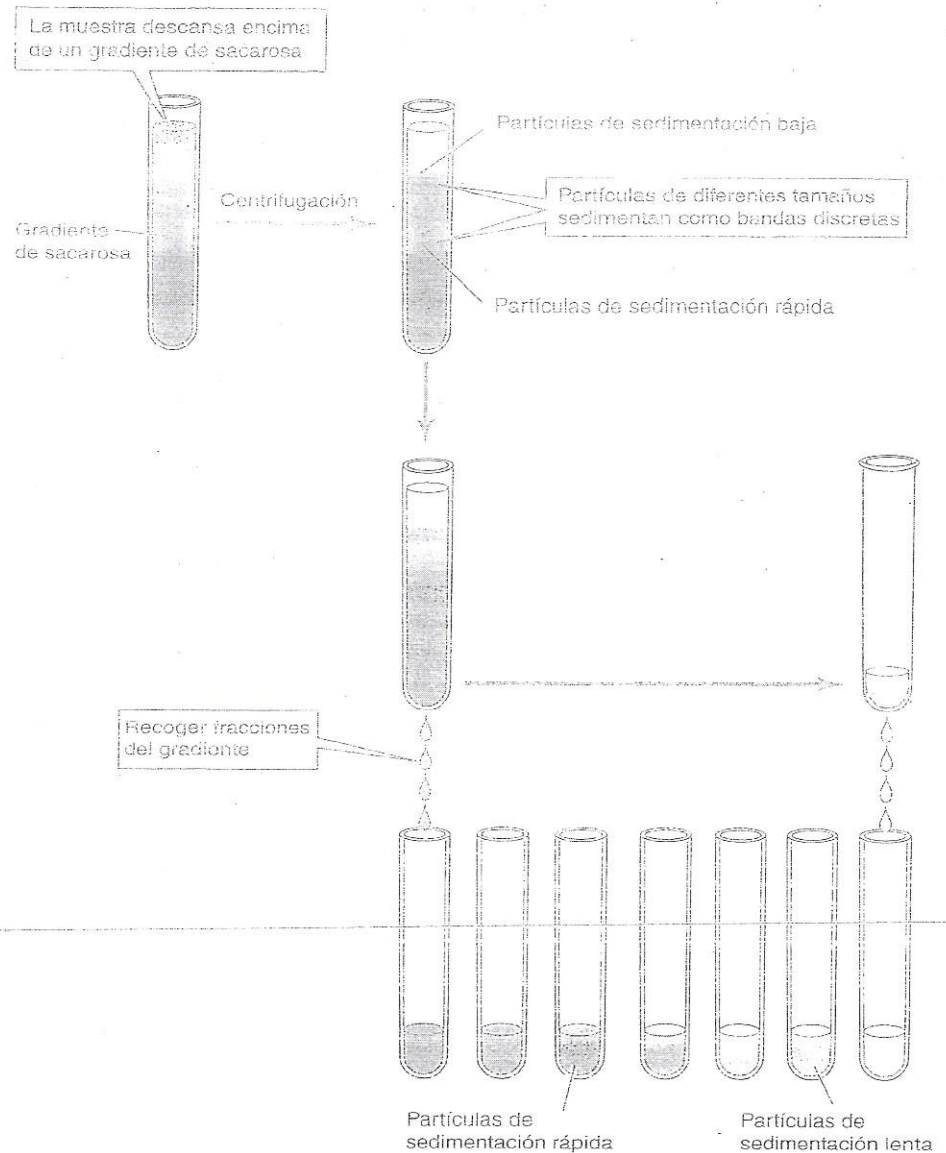
pequeños fragmentos mientras que dejan a otros componentes de la célula (como el núcleo, lisosomas, peroxisomas, mitocondria y cloroplastos) intactos.

La suspensión de las células rotas (llamado lisado u homogeneizado) se fracciona en sus componentes mediante una serie de centrifugaciones en una ultracentrífuga que procesa las muestras a una alta velocidad (más de 100.000 rpm) para producir fuerzas alrededor de 500.000 veces mayores que la gravedad. Esta fuerza determina que los componentes celulares se sitúen al fondo del tubo de centrifugación y que formen un precipitado (proceso llamado sedimentación) en un grado que depende del tamaño y la densidad, sedimentándose las estructuras más grandes y pesadas con mayor rapidez (Fig. 1.38). Normalmente el homogeneizado celular se centrifuga la primera vez a velocidad lenta, que sedimenta solamente las células que no se han roto y las grandes estructuras celulares —los núcleos—. Por tanto, se puede obtener una fracción rica en núcleos del precipitado que se forma en la centrifugación a velocidad lenta mientras que otros componentes celulares continúan suspendidos en el sobrenadante (el resto de la solución). El sobrenadante se centrifuga después a velocidad rápida para sedimentar mitocondrias, cloroplastos, lisosomas y peroxisomas. La re-centrifugación del sobrenadante a gran velocidad sedimenta fragmentos de la membrana plasmática y del retículo endoplasmático. Una cuarta centrifugación a gran velocidad sedimenta ribosomas, dejando exclusivamente la porción soluble del citoplasma (el citosol) en el sobrenadante.





**Figura 1.39. Velocidad de centrifugación en un gradiente de densidad.** La muestra descansa encima de un gradiente de sacarosa, y partículas de diferentes tamaños sedimentan a través del gradiente en forma de bandas discretas. Las partículas separadas pueden recogerse en fracciones individuales del gradiente, que pueden obtenerse simplemente punzando el fondo del tubo de centrifugación y recogiendo las gotas.



Las fracciones obtenidas de la centrifugación diferencial corresponden a preparaciones de orgánulos enriquecidas, pero no puras. Se puede obtener un mayor nivel de purificación mediante la centrifugación en gradiente de densidad, en la que los orgánulos se separan mediante la sedimentación en función al gradiente de una sustancia densa, como la sacarosa. En la centrifugación por velocidad, el material primario se estratifica en el gradiente de sacarosa (Fig. 1.39). Partículas de diferentes tamaños se sedimentan por el gradiente en diferentes escalas, moviéndose como bandas discretas. Después de la centrifugación, la colección de fracciones individuales del gradiente proporciona la información necesaria para separar a los orgánulos de tamaños similares, como mitocondrias, lisosomas y peroxisomas.

La centrifugación de equilibrio en gradiente de densidad puede utilizarse para separar componentes subcelulares en función de su migración en un gradiente de densidad, independientemente de su tamaño y forma. En este procedimiento, la muestra se centrifuga en un gradiente que contiene una alta concentración de sacarosa o cloruro de cesio. En lugar de separarse de acuerdo con su velocidad de sedimentación, las partículas de la muestra se centrifugan hasta que han alcanzado una posición de equilibrio en la que su densidad es igual a la de la solución de sacarosa o cloruro de



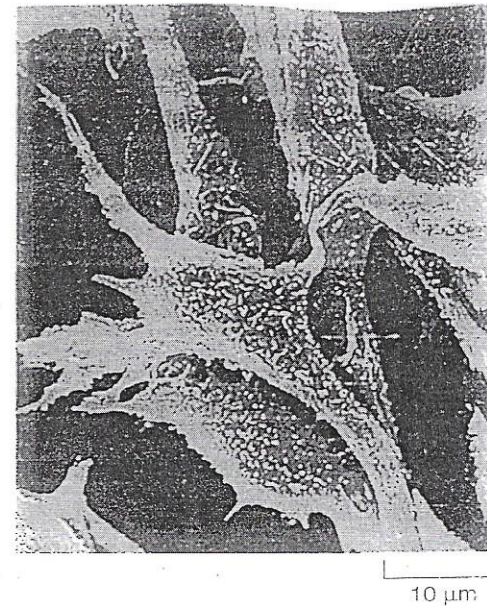
cesio. Estas centrifugaciones de equilibrio resultan útiles a la hora de separar diferentes tipos de membranas y son lo suficientemente sensibles para separar macromoléculas marcadas con diferentes isótopos. Un ejemplo clásico, discutido en el Capítulo 4, es el análisis de la replicación del ADN mediante la separación de las moléculas de ADN que contienen isótopos pesados y ligeros de nitrógeno ( $^{15}\text{N}$  y  $^{14}\text{N}$ ) mediante la centrifugación de equilibrio en gradientes de cloruro de cesio.

### Crecimiento de las células animales en cultivo

La habilidad para estudiar las células depende en su mayoría de la facilidad con la que pueden crecer y ser manipuladas en el laboratorio. Aunque el proceso es técnicamente mucho más difícil que el cultivo de bacterias o levaduras, una gran variedad de células animales y vegetales pueden ser cultivadas y manipuladas en cultivo. Los sistemas de cultivo celular *in vitro* han permitido a los científicos estudiar el crecimiento y diferenciación celular, así como desarrollar manipulaciones genéticas necesarias para entender la estructura y función de los genes.

Los cultivos de células animales se inician mediante la dispersión de una parte de tejido en una suspensión de sus componentes celulares, que se añade más tarde a una placa de cultivo que contiene un medio nutritivo. La mayoría de los tipos de células animales, como los fibroblastos y las células epiteliales, se adhieren y crecen en la superficie plástica de las placas usadas para el cultivo de células (Fig. 1.40). Se utilizan con frecuencia embriones y tumores como material de iniciación, debido a que contienen células de crecimiento rápido. Los fibroblastos embrionarios crecen particularmente bien en cultivo, y en consecuencia son uno de los tipos de células animales más estudiados. Bajo condiciones apropiadas, sin embargo, algunas células especializadas también pueden crecer en cultivo, permitiendo así el estudio de sus propiedades en un ambiente experimental controlado. Las células madre embrionarias constituyen un ejemplo especialmente notable. Estas células se establecen en cultivo a partir de embriones tempranos y mantienen su capacidad de diferenciarse en todos los tipos celulares presentes en los organismos adultos. En consecuencia, las células madre embrionarias han representado un papel importante en el estudio de las funciones de una variedad de genes del desarrollo murino, además de ofrecer la posibilidad de contribuir al tratamiento de enfermedades humanas, al constituir una fuente de tejido para las terapias de trasplante.

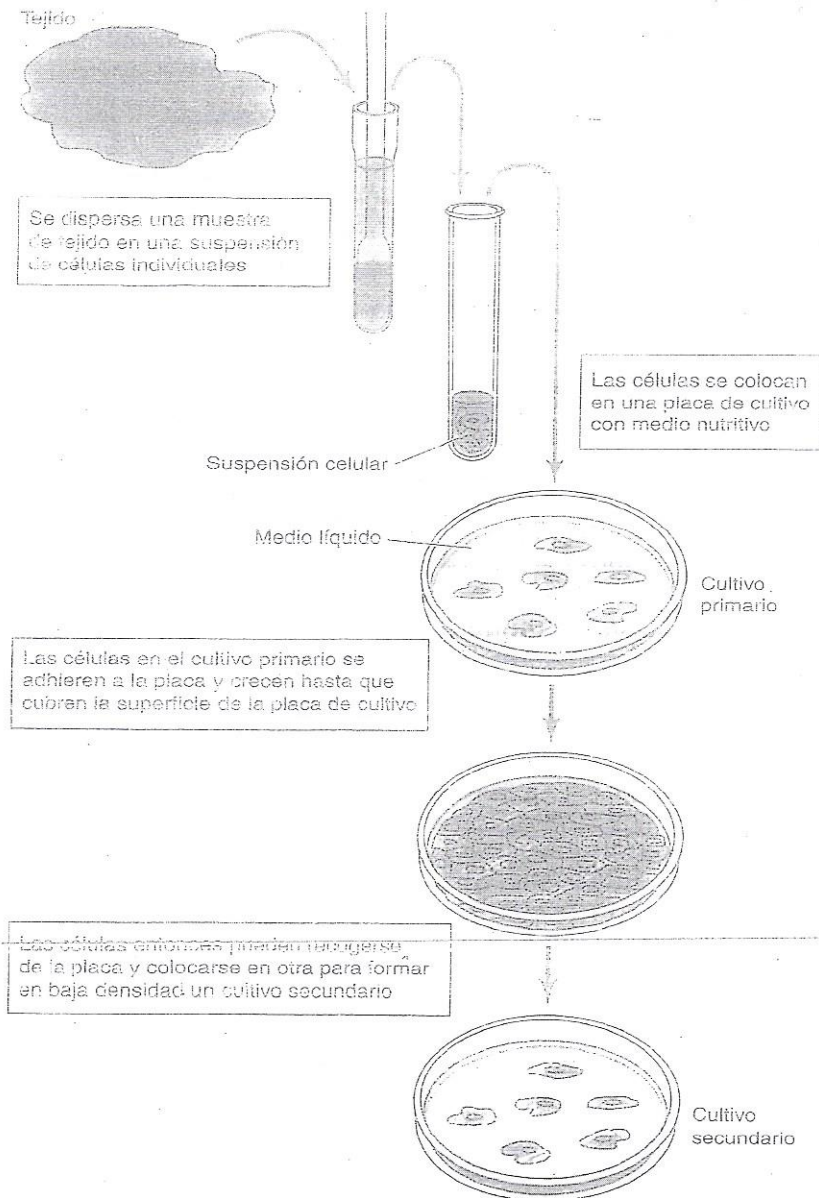
El medio de cultivo necesario para la propagación de células animales es mucho más complejo que el medio mínimo para sustentar el crecimiento de las bacterias y levaduras. Los primeros estudios de cultivo celular utilizaban un medio que consistía en componentes indefinidos, como plasma, suero y extractos embrionarios. Se avanzó aún más en 1955, cuando Harry Eagle describió el primer medio definido que sustentaba el crecimiento de las células animales. Además de sales y glucosa, el medio utilizado para los cultivos de células animales contiene varios aminoácidos y vitaminas, que las células no pueden producir por sí mismas. El medio de crecimiento de muchas células animales en cultivo también incluye suero, que sirve como fuente de factores de crecimiento polipeptídicos que son necesarios para estimular la división celular. Se han identificado varios factores de crecimiento. Actúan como reguladores críticos del crecimiento y la diferenciación celular en organismos multicelulares, proporcionando señales mediante las que diferentes células se comunican unas con otras. Por ejemplo, una función importante de los fibroblastos de la piel en el animal intacto es la proliferación cuando se necesita reparar el daño causado por un corte o una herida. Su división está desencadenada por un factor de crecimiento liberado por las plaquetas durante la coagulación, derivando la estimulación de la



**Figura 1.40 Células animales en cultivo.** Micrografía electrónica de barrido de fibroblastos humanos unidos a la superficie del disco de cultivo (se ha añadido color artificial). (© CNRI/SPL/Photo Researchers, Inc.)



**Figura 1.41 Cultivo de células  
minimales.** Las células procedentes de  
un tejido se cultivan en medio nutriti-  
vo en placas Petri.



proliferación de los fibroblastos del entorno del tejido dañado. La identificación de los factores de crecimiento individuales ha hecho posible el cultivo de una variedad de células en un medio libre de suero (medio en el que el suero ha sido reemplazado por factores de crecimiento específicos necesarios para la proliferación de las células en cuestión).

Los cultivos iniciales de células establecidos a partir de un tejido se denominan cultivos primarios (Fig. 1.41). Las células en un cultivo primario normalmente crecen hasta cubrir la superficie de la placa de cultivo. Después pueden ser retiradas de la placa y reponerse a baja densidad para formar cultivos secundarios. Este proceso se puede repetir muchas veces, aunque la mayoría de las células normales no pueden crecer en cultivo indefinidamente. Por ejemplo, los fibroblastos humanos normales admiten desde 50 a 100 duplicaciones de la población, después de las cuales paran de crecer y mueren. Por el contrario, las células que se derivan de tumores con frecuencia proliferan indefinidamente en cultivo y reciben el nombre de líneas celulares inmortales. Además, se ha conseguido aislar un importante número de líneas celulares inmortalizadas de roedores procedentes de cultivos de fibroblastos normales. En lugar de morir como la mayoría de sus homólogos,



## EXPERIMENTO CLAVE

## Cultivo celular animal

## Requisitos nutritivos de las células de mamíferos en cultivos de tejidos

Harry Eagle

National Institutes of Health, Bethesda, MD

Science, Volumen 122, 1955, págs. 501-504



Harry Eagle

## Contexto

Los primeros cultivos celulares se basaban en el crecimiento celular a partir de fragmentos de tejido que estaban embebidos en coágulos de plasma, un sistema de cultivo que estaba lejos de ser adecuado para el análisis experimental. A finales de los años 1940, uno de los mayores avances fue establecer líneas celulares que crecían a partir de células aisladas adheridas a la superficie de las placas de cultivo. Pero estas células seguían creciendo en un medio indefinido que consistía en diversas combinaciones de suero y extractos embrionarios. Por ejemplo, una de las líneas cancerígenas humanas más utilizadas (llamada células HeLa) se estableció por primera vez en 1952 mediante su crecimiento en un medio que consistía en plasma de pollo, extractos de embrión ovino, y suero del cordón umbilical humano. El uso de tal complejo y el medio de cultivo indefinido hicieron imposible el análisis de las necesidades específicas de crecimiento de las células animales. Harry Eagle fue el primero en resolver este problema, llevando a cabo un análisis sistemático de los nutrientes necesarios para sustentar el crecimiento de las células animales en cultivo.

## Experimentos

Eagle estudió el crecimiento de dos líneas celulares preestablecidas: las células HeLa y una línea de fibroblastos del ratón llamada células L. Fue capaz de hacer crecer a estas células en un medio compuesto por una mezcla de sales, carbohidratos, aminoácidos y vitaminas, y un suplemento de proteínas séricas. Mediante la variación sistemática de los componentes del medio, Eagle fue

capaz de determinar los nutrientes específicos necesarios para el crecimiento celular. Además de sales y glucosa, estos nutrientes incluyen 13 aminoácidos y diversas vitaminas. También resultaron necesarias una pequeña cantidad de proteínas séricas. El medio básico desarrollado por Eagle está descrito en la siguiente tabla, reproducida de su ensayo de 1955.

## Impacto

El medio descrito por Eagle todavía resulta el medio básico utilizado hoy en día para los cultivos de células animales. Su uso ha permitido a los investigadores el crecimiento de una

basta variedad de células bajo condiciones experimentales definidas, las cuales han sido críticas para el estudio del crecimiento y la diferenciación de las células animales, incluyendo la identificación de los factores de crecimiento presentes en el suero —ahora se incluyen polipéptidos que controlan el comportamiento de las células individuales dentro del animal intacto.

Tabla 4. Medio básico para el cultivo de la célula HeLa y de los fibroblastos de ratón (10)

L-aminoácidos* (mM)		Vitaminas† (mM)		Diversos	
Arginina	0,1	Biotina	10 <sup>-3</sup>	Glucosa	5 mM§
Cisteína	0,05 (0,02)†	Colina	10 <sup>-3</sup>	Penicilina	0,005%#
Glutamina	2,0 (1,0)¶	Ácido fólico	10 <sup>-3</sup>	Estreptomicina	0,005%#
Histidina	0,05 (0,02)†	Nicotinamida	10 <sup>-3</sup>	Rojo fenol	0,0005%#
Isoleucina	0,2	Ácido pantoténico	10 <sup>-3</sup>		
Leucina	0,2 (0,1)†	Piridoxal	10 <sup>-3</sup>	Para estudios de nutrición celular	
Lisina	0,2 (0,1)†	Tiamina	10 <sup>-3</sup>	Diálisis suero de caballo, 1%†	
Metionina	0,05	Riboflavina	10 <sup>-4</sup>	Diálisis suero humano, 5%	
Fenilalanina	0,1 (0,05)†	Sales (mM)§		Para cultivos de cantidad	
Treonina	0,2 (0,1)†	NaCl	100	Suero de caballo completo, 5%†	
Triptófano	0,02 (0,01)†	KCl	5	Suero humano completo, 10%	
Tirosina	0,1	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	1		
Valina	0,2 (0,1)†	NaHCO <sub>3</sub>	20		
		CaCl <sub>2</sub>	1		
		MgCl <sub>2</sub>	0,5		

\* Es conveniente guardarlo en el refrigerador como una solución única que contiene 20 veces la concentración indicada de cada aminoácido.

† Para el fibroblasto de ratón.

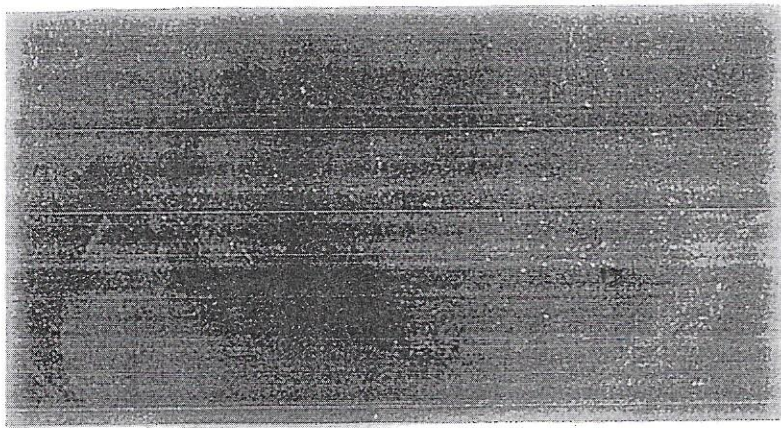
‡ Es conveniente guardarlo como una solución única que contenga 100 o 1.000 veces la concentración indicada de cada vitamina; mantener congelado.

§ Es conveniente guardarlo en el refrigerador en dos soluciones, una que contenga NaCl, KCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> y glucosa diez veces la concentración indicada para cada una, y la segunda que contenga CaCl<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub>, 20 veces la concentración indicada.

¶ Es conveniente guardarlo como una solución 100 mM; congelado cuando no se use.

# Es conveniente guardarlo como una solución única que contenga 100 veces la concentración indicada de penicilina, estreptomina y rojo fenol.





**Figura 1.42 Células vegetales en cultivo.** Una masa indiferenciada de células vegetales (un callo) creciendo en un medio sólido. (John N. A. Lott/Biological Photo Service.)

algunas células de estos cultivos continúan proliferando indefinidamente, formando líneas celulares como aquellas que se derivan de los tumores. Tales líneas celulares permanentes han resultado muy útiles para muchos tipos de experimentos ya que proporcionan una fuente continua y uniforme de células que pueden ser manipuladas, clonadas y cultivadas indefinidamente en el laboratorio.

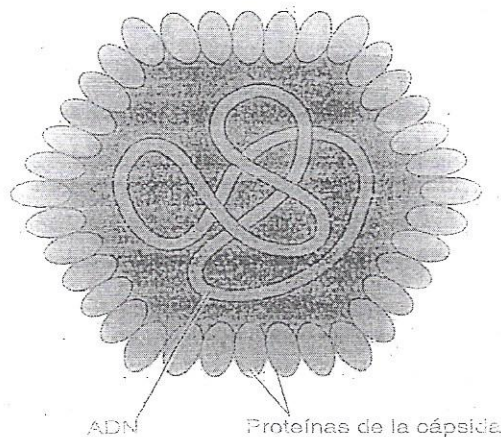
Incluso bajo condiciones óptimas, el tiempo de división de la mayoría de las células animales que crecen activamente es del orden de 20 horas —diez veces más largo que el tiempo de división de las levaduras—. Por tanto, los experimentos con células animales cultivadas son mucho más difíciles y más largos que aquellos con bacterias y levaduras. Por ejemplo, el crecimiento de una colonia visible de células animales a partir de una sola célula dura una semana o más, mientras que las colonias de *E. coli* o de levaduras se desarrollan durante una noche. No obstante, las manipulaciones genéticas de las células animales en cultivo resultan indispensables para el entendimiento de la estructura y función de la célula.

### Cultivo de células vegetales

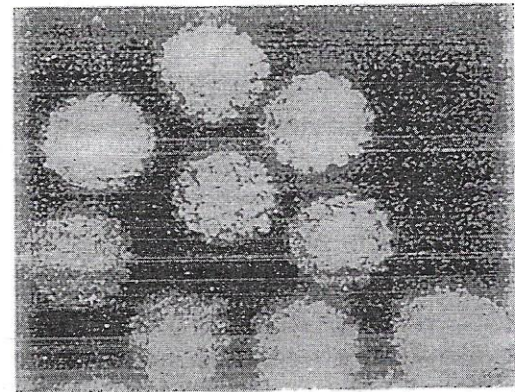
Las células vegetales también pueden ser cultivadas en un medio nutritivo que contenga las moléculas apropiadas para la regulación del crecimiento. Al contrario que los factores de crecimiento polipeptídicos que regulan la proliferación de la mayoría de las células animales, los reguladores del crecimiento de las células vegetales son pequeñas moléculas capaces de atravesar la pared celular vegetal. Cuando se suministran mezclas apropiadas con estas moléculas reguladoras del crecimiento, muchos tipos de células vegetales proliferan en cultivo, produciendo una masa de células no diferenciadas denominadas callo (Fig. 1.42).

Es importante tener en cuenta que muchas células vegetales son capaces de formar cualquiera de los distintos tipos celulares y tejidos necesarios para regenerar una planta completa. En consecuencia, mediante la manipulación apropiada de nutrientes y de las moléculas reguladoras del crecimiento, las células vegetales no diferenciadas en cultivo pueden ser inducidas para formar variedad de tejidos vegetales, incluyendo raíces, tallos y hojas. En muchos casos, incluso una planta entera puede regenerarse a partir de una sola célula en cultivo. Además de su interés teórico, la habilidad de producir una nueva planta desde una sola célula manipulada en cultivo

(A)



(B)



50 nm

**Figura 1.43 Estructura de un virus animal.** (A) Partículas del papilomavirus que contienen una pequeña molécula de ADN circular encapsulada en una cubierta de proteínas (la cápsida). (B) Micrografía electrónica de partículas del virus del papiloma humano. Se han añadido colores artificiales. (B, Linda Stannard/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.)



## MEDICINA MOLECULAR

**Virus y cáncer****Enfermedad**

El cáncer incluye un conjunto de enfermedades caracterizadas por la proliferación celular incontrolada. El crecimiento de las células animales normales está cuidadosamente regulado para mantener las necesidades del organismo al completo. Por el contrario, las células cancerígenas crecen de manera descontrolada, invadiendo e interfiriendo en la función de tejidos y órganos normales. El cáncer es la segunda causa más común de muerte (después de las enfermedades cardíacas) en Estados Unidos. Aproximadamente uno de cada tres americanos desarrollará cáncer en algún momento de su vida y, en espera de mejores avances en su tratamiento, cerca de uno de cada cuatro americanos morirá de esta enfermedad. Entender las causas del cáncer y el desarrollo de nuevos métodos de tratamiento resultan por tanto los principales objetivos de la investigación médica.

**Bases moleculares y celulares**

Actualmente sabemos que el cáncer es el resultado de mutaciones en los genes que normalmente controlan la proliferación celular. Los descubrimientos fundamentales que han conducido a la identificación de estos genes han surgido de los estudios de virus que causan cáncer en animales, el prototipo de los cuales fue aislado por Peyton Rous en 1911. Rous descubrió que los sarcomas (un cáncer del tejido conectivo) en pollos podían transmitirse mediante un virus, o RSV (siglas en inglés del Virus del Sarcoma de Rous). Debido a que RSV es un retrovirus con un genoma de tan solo 10.000 pares de bases, éste podía someterse a análisis moleculares mucho más fácilmente que los complejos genomas de los

pollos u otras células animales. Estos estudios condujeron a la identificación de un gen específico causante del cáncer (oncogén) transportado por el virus, y al descubrimiento de genes relacionados en las células normales de todas las especies de vertebrados, incluyendo a los humanos. Algunos cánceres en los humanos se sabe que están causados por virus; otros resultan de las mutaciones en los genes de las células normales de forma similar al primer oncogén identificado en el RSV.

**Prevención y tratamiento**

Los cánceres humanos que están causados por virus incluyen el cervical y otros cánceres anogenitales (virus del papiloma), cáncer de hígado (virus de la hepatitis B y C), y algunos tipos de linfomas (virus Epstein-Barr y el virus humano linfotrópico de las células T). Juntos, estos cánceres inducidos por virus representan alrededor del 20% de la incidencia de cáncer en el mundo. En principio, estos cánceres se podrían prevenir con vacunas en contra del virus responsable, consiguiéndose un progreso considerable en este área el

desarrollo de una vacuna efectiva contra el virus de la hepatitis B y papilomavirus humanos.

Otros cánceres humanos están causados por la mutación de genes en células normales, muchas de las cuales ocurren durante la vida del individuo en lugar de heredarse. Los estudios sobre los virus causantes de cánceres han proporcionado la identificación de muchos genes responsables de los cánceres no inducidos por virus, y el entendimiento de los mecanismos moleculares responsables del desarrollo del cáncer. Se están haciendo verdaderos esfuerzos para utilizar la biología molecular y celular del cáncer para desarrollar nuevos avances en su tratamiento. De hecho, la primera droga de diseño eficaz en el tratamiento del cáncer humano (la droga del fármaco imatinib o Gleevec, descrito en el Cap. 18) fue desarrollada contra un gen muy similar al oncogén RSV.

**Referencia**

Rous, P. 1911. Un sarcoma del ave de corral transmisible por un agente separable de las células tumorales. *J. Exp. Med.* 13: 397-411.



El tumor trasplantado del que fue aislado el virus del sarcoma de Rous.



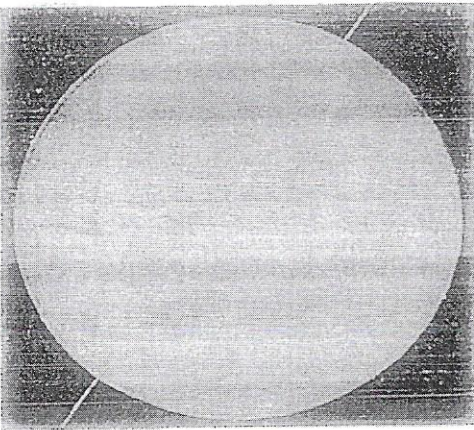


Figura 1.44 Placas de bacteriófagos. Las placas de T4 son visibles en un tapiz de *E. coli*. Cada placa se forma por la replicación de una sola partícula del virus. (E. C. S. Chen/Visuals Unlimited.)

hace posible la introducción de alteraciones genéticas en las plantas, abriendo importantes posibilidades para la ingeniería genética agrícola.

### Virus

Los virus son parásitos intracelulares incapaces de replicarse por sí mismos. Se reproducen mediante la infección de células huésped y la usurpación de la maquinaria celular para producir más partículas virales. En sus formas más simples, los virus consisten solamente en ácido nucleico genómico (ADN o ARN) rodeado de una cubierta proteínica (Fig. 1.43). Los virus son importantes para la biología molecular y celular porque proporcionan sistemas simples que pueden ser utilizados para investigar las funciones de las células. Ya que la replicación de los virus depende del metabolismo de las células infectadas, los estudios sobre virus han revelado muchos de los aspectos fundamentales de la biología celular. Estudios sobre los virus bacterianos contribuyeron sustancialmente a la comprensión de los mecanismos básicos de la genética molecular, y fueron los experimentos con virus vegetales (con el virus del mosaico del tabaco) los que demostraron por primera vez el potencial genético del ARN. Los virus animales han proporcionado pruebas sensibles para las investigaciones de varias actividades de las células eucariotas.

El rápido crecimiento y el pequeño tamaño de las bacterias hacen de ellas un elemento excelente para los experimentos en biología molecular, y los virus bacterianos (bacteriófagos) han simplificado el estudio de la genética bacteriana. Uno de los bacteriófagos más importantes es T4, que infecta y se replica en *E. coli*. La infección con una sola partícula de T4 conduce a la formación de una progenie de aproximadamente 200 partículas virales en 20-30 minutos. La célula infectada inicialmente después estalla (se lisa), liberando las partículas virales al medio, donde pueden infectar a nuevas células. En un cultivo de bacterias creciendo en un medio con agar, la replicación de T4 conduce a la formación de una zona clara de células lisadas (una placa) en una plancha o «césped» de bacterias (Fig. 1.44). Si las partículas virales infecciosas son fáciles de reproducir y de manipular, los mutantes virales —p. ej., virus que crecerán en una cepa de *E. coli* pero no en otra— son fáciles de aislar. Por tanto, T4 se manipula con mayor frecuencia que *E. coli* en estudios de genética molecular. Además, el genoma de T4 es 23 veces menor que el de *E. coli* —aproximadamente 0,2 millones de pares de bases— lo cual facilita el análisis genético. Otros bacteriófagos tienen incluso genomas

Tabla 1.3 Ejemplos de virus animales

Familia de virus	Miembro representativo	Tamaño del genoma (miles de pares de bases)
<b>Genomas ARN</b>		
Picornavirus	Poliovirus	7-8
Togavirus	Virus de la rubéola	12
Flavivirus	Virus de la fiebre amarilla	10
Paramixovirus	Virus del sarampión	16-20
Orthomixovirus	Virus de la gripe	14
Retrovirus	Virus de la inmunodeficiencia humana	9
<b>Genomas ADN</b>		
Hepadnavirus	Virus de la hepatitis B	3,2
Papovavirus	Papilomavirus humano	5-8
Adenovirus	Adenovirus	36
Herpesvirus	Virus del herpes simple	120-200
Poxvirus	Virus Vaccinia	130-280



más pequeños —el más simple consiste en moléculas de ARN de tan solo 3.600 nucleótidos—. Los virus bacterianos han proporcionado, por tanto, unos sistemas de experimentación extremadamente útiles para la genética molecular. Los estudios de estos virus son los responsables del descubrimiento de principios fundamentales de la biología molecular.

Debido al aumento de la complejidad del genoma de las células animales, los virus han sido aún más importantes en los estudios de las células animales que en los estudios de las bacterias. Muchos virus animales se replican y se estudian mediante la formación de placas en los cultivos celulares, mucho más que los bacteriófagos. Además, los genomas de los virus animales son similares en complejidad a los virus bacterianos (variando aproximadamente desde 3.000 a 300.000 pares de bases), de tal forma que los virus animales son mucho más manejables que los de sus células huésped.

Existen diversidad de virus animales, cada uno de ellos presentando ADN o ARN como material genético (Tabla 1.3). Una familia de virus animales —los retrovirus— contienen genomas de ARN en sus partículas virales pero sintetizan una copia de ADN de su genoma en las células infectadas. Estos virus proporcionan un buen ejemplo de la importancia de los virus como modelos, ya que los estudios de los retrovirus fueron los que demostraron la síntesis del ADN a partir de los moldes de ARN —una manera fundamental de transferencia de información genética ahora conocida en células procariotas y eucariotas—. Otros ejemplos en los que los virus animales han proporcionado modelos importantes para la investigación de sus células huésped incluyen estudios de la replicación del ADN, transcripción, procesamiento del ARN y transporte y secreción de proteínas.

Cabe destacar que la infección por algunos virus animales, en lugar de matar a la célula huésped, convierten a una célula normal en una célula cancerosa. Los estudios sobre estos virus causantes de cánceres, descritos por primera vez por Peyton Rous en 1911, no solo han proporcionado las bases de nuestro actual conocimiento del cáncer a nivel molecular y celular, sino que también han conducido al descubrimiento de muchos mecanismos moleculares que controlan el crecimiento y la diferenciación de las células animales.

## RESUMEN

### ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LAS CÉLULAS

**La primera célula:** Todas las células existentes en la actualidad, procariotas y eucariotas, descienden de un único antepasado. Se cree que la primera célula apareció al menos hace 3.800 billones de años como resultado del recubrimiento del ARN, capaz de autorreplicarse, en una membrana de fosfolípidos.

**Evolución del metabolismo:** Las primeras reacciones para la creación de energía metabólica fueron en forma de glicólisis anaerobia. Después evolucionó la fotosíntesis, seguida del metabolismo oxidativo.

**Actuales procariotas:** Los actuales procariotas se encuentran divididos en dos grupos, las arqueobacterias y las eubacterias, que divergen al principio de la evolución.

**Células eucariotas:** Las células eucariotas, que son más grandes y complejas que las células procariotas, contienen un núcleo, orgánulos citoplasmáticos y un citoesqueleto.

## PALABRAS CLAVE

célula procariota, célula eucariota, mundo del ARN, fosfolípidos, anfipáticos, hidrofóbico, hidrofílico

adenosina 5'-trifosfato (ATP), glicólisis, fotosíntesis, metabolismo oxidativo

arqueobacterias, eubacterias, cianobacterias, *Escherichia coli* (*E. coli*), pared celular, membrana plasmática, ribosoma

núcleo, mitocondria, cloroplasto, lisosoma, peroxisoma, vacuola, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, citoesqueleto, endosimbiosis



## PALABRAS CLAVE

episimbiosis

levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, pseudopodium, célula epitelial, fibroblasto, eritrocito, granulocito, monocito, macrófago, linfocito, neurona

*Caenorhabditis elegans*

*Drosophila melanogaster*

*Arabidopsis thaliana*

*Xenopus laevis*, pez cebra

resolución, microscopia de campo luminoso, microscopia de fase-contraste, microscopia interferencia-contraste diferencial, microscopia interferencia-contraste diferencial potenciada con vídeo, microscopia fluorescente, proteína fluorescente verde (GFP), recuperación de la fluorescencia tras el fotoblanqueamiento (FRAP), transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET) microscopia confocal, microscopia por excitación de dos fotones

## RESUMEN

**El origen de células eucariotas:** Se cree que las células eucariotas se han desarrollado a partir de asociaciones simbióticas de procariotas. El genoma de eucariotas puede haber surgido a partir de la fusión de genomas eubacterianos y arqueobacterianos.

**Desarrollo de los organismos multicelulares:** Los eucariotas más simples son organismos unicelulares, como las levaduras y las amebas. Los organismos multicelulares evolucionaron por la asociación entre los eucariotas unicelulares, y la reproducción por división condujo al desarrollo de muchas clases de células especializadas que forman las plantas y animales del presente.

### CÉLULAS COMO MODELOS EXPERIMENTALES

***E. coli*:** Debido a su simplicidad genética y su fácil estudio, las bacterias como *E. coli* resultan particularmente útiles para la investigación de los aspectos fundamentales de la bioquímica y biología molecular.

**Levaduras:** Por ser las células eucariotas más simples, las levaduras son un modelo importante para el estudio de diversos aspectos de la biología celular eucariota.

***Caenorhabditis elegans*:** El nematodo *C. elegans* es un organismo multicelular simple que sirve como modelo importante para la biología del desarrollo.

***Drosophila melanogaster*:** Debido al análisis genético tan extenso, los estudios de la mosca de la fruta *Drosophila* han conducido a avances superiores en el entendimiento del desarrollo animal.

***Arabidopsis thaliana*:** La pequeña planta de flor *Arabidopsis* se utiliza como modelo para los estudios de la biología molecular de las plantas y su desarrollo.

**Vertebrados:** Muchos tipos de células de los vertebrados pueden crecer en cultivo, donde pueden ser estudiadas bajo condiciones de laboratorio controladas. Los tipos de células especializadas, como las neuronas y las células musculares, proporcionan modelos útiles para la investigación de determinados aspectos de la biología celular. La rana *Xenopus laevis* y el pez cebra son importantes modelos para el estudio del desarrollo de los primeros vertebrados, y el ratón es la especie de mamífero adecuada para el análisis genético.

### INSTRUMENTOS DE LA BIOLOGÍA CELULAR

**Microscopia óptica:** Se aplican diversos métodos para visualizar las células y las estructuras subcelulares y para determinar la localización intracelular de moléculas específicas usando el microscopio óptico.



Material  
Inicial  
Biología Molecular  
Johnny  
Vargas

## Introducción al estudio de la biología celular y molecular

- 1.1 El descubrimiento de las células
- 1.2 Propiedades básicas de las células
- 1.3 Dos clases de células  
fundamentalmente diferentes
- 1.4 Virus

Perspectiva humana:  
Posibilidad de un tratamiento  
con reemplazo celular

Vías experimentales: Origen  
de las células eucariotas

Las células y sus estructuras son demasiado pequeñas para observarlas, escucharlas o tocarlas de manera directa. Pese a este notable inconveniente, las células son objeto de cientos de miles de publicaciones cada año, con análisis cuidadoso de casi todos los aspectos de su minúscula estructura. De muchas maneras, el estudio de la biología celular y molecular permanece como tributo a la curiosidad humana por investigar, descubrir, y a la inteligencia creativa del ser humano para diseñar instrumentos complejos así como técnicas elaboradas gracias a las cuales se puedan realizar descubrimientos. Esto no implica que los biólogos celulares tengan el monopolio de estos nobles rasgos. En un extremo del espectro científico, los astrónomos buscan en los límites del universo agujeros negros y quasares, cuyas propiedades parecen inimaginables cuando se comparan con las que existen en la Tierra. En el otro extremo, los físicos nucleares enfocan su atención a partículas de dimensiones subatómicas que también poseen propiedades inconcebibles. Desde luego, el universo posee mundos dentro de otros mundos; todos estos aspectos hacen fascinante su estudio.

Como se advierte a través de todo el libro, la biología celular y molecular es *reduccionista*, esto es, se basa en el razonamiento de que el conocimiento de las partes puede explicar el carácter del todo. Visto de esta forma, la posición respecto de las maravillas

Un ejemplo de la función de la innovación tecnológica en el campo de la biología celular. Esta micrografía de luz muestra una célula colocada sobre una "superficie" de postes sintéticos. Los postes flexibles sirven como sensores para medir la fuerza mecánica ejercida por la célula. Los elementos teñidos de rojo son haces de filamentos de actina intracelulares que generan fuerzas cuando existe movilidad celular. Cuando la célula se desplaza, arrastra los postes a los que está unida, lo que permite cuantificar la cantidad de tensión que experimenta. El núcleo de la célula está teñido de verde. (TOMADA DE J.L. TAN, ET AL., PROC NATL ACAD SCI USA 100(4), 2003; CORTESÍA DE CHRISTOPHER S. CHEN, THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY.)



los sistemas vivos. En la medida en que esto ocurra, se espera que la pérdida que ocasiona tal reduccionismo pueda sustituirse por una apreciación no menos importante de la belleza y complejidad de los mecanismos que encierra la actividad celular.

## 1.1 EL DESCUBRIMIENTO DE LAS CÉLULAS

Las células, por su pequeño tamaño, sólo pueden observarse con la ayuda de un microscopio, el instrumento que aumenta la imagen de un objeto diminuto. No se sabe cuándo los seres humanos descubrieron la capacidad de una superficie curva de vidrio para desviar la luz y formar imágenes. Los primeros espejuelos se produjeron en Europa en el siglo XIII y los primeros microscopios ópticos compuestos (de dos lentes) se construyeron a finales del siglo XVI. A mediados del siglo XVII, muchos científicos pioneros utilizaron sus microscopios caseros para descubrir un mundo que nunca se había revelado a simple vista. El descubrimiento de las células (fig. 1-1a) se acredita por lo general a Robert Hooke, un microscopista inglés que a la edad de 27 años le fue concedida la posición de curador de la *Royal Society of London*, la primera academia científica de Inglaterra. Una de las muchas preguntas que Hooke intentó resolver fue por qué los tapones de corcho (parte de la corteza de los árboles) eran tan adecuados para contener el aire en una botella. En 1665 escribió lo siguiente: "tomé un buen pedazo de corcho limpio y con un cuchillo tan afilado como una navaja, de afeitador corté un pedazo y... entonces lo examiné con un microscopio y percibí que tenía una apariencia porosa... muy semejante a un panal de abejas". Hooke llamó a los poros *células* porque se asemejaban a las celdas habitadas por los monjes de un monasterio. En la actualidad se sabe que Hooke observó las paredes celulares vacías que corresponden al tejido vegetal muerto, es decir, paredes que en su origen elaboraron las células vivas circundantes.

Mientras tanto, Anton van Leeuwenhoek, un holandés que se ganaba la vida con la venta de ropa y botones, dedicaba su tiempo libre a tallar lentes y construir microscopios de gran calidad (fig. 1-1b). Durante 50 años, Leeuwenhoek envió cartas a la *Royal Society of London* en las que describió sus observaciones microscópicas, junto con una descripción incoherente de sus hábitos diarios y su estado de salud. Leeuwenhoek fue el primero en examinar una gota de agua estancada bajo el microscopio y para su asombro observó gran cantidad de "animalículos" en el campo del microscopio que iban y venían ante sus ojos. También fue el primero en describir diferentes formas de bacterias presentes en el agua resultante de remojar pimienta y en el material del raspado de sus dientes. Sus cartas iniciales remitidas a la *Royal Society*, en las que describe este mundo todavía no descubierto, se tomaron con tal escepticismo que la sociedad mandó a su curador Robert Hooke para confirmar las observaciones. Hooke hizo lo indicado y Leeuwenhoek se convirtió de inmediato en una celebridad mundial y recibió visitas en Holanda de Pedro el Grande de Rusia y la reina de Inglaterra.

No fue sino hasta la década de 1830 que se difundió la importancia de las células. En 1838, Matthias Schleiden, un abogado alemán que se convirtió en botánico, concluyó que a pesar de la diferencia en la estructura de varios tejidos, las plantas estaban

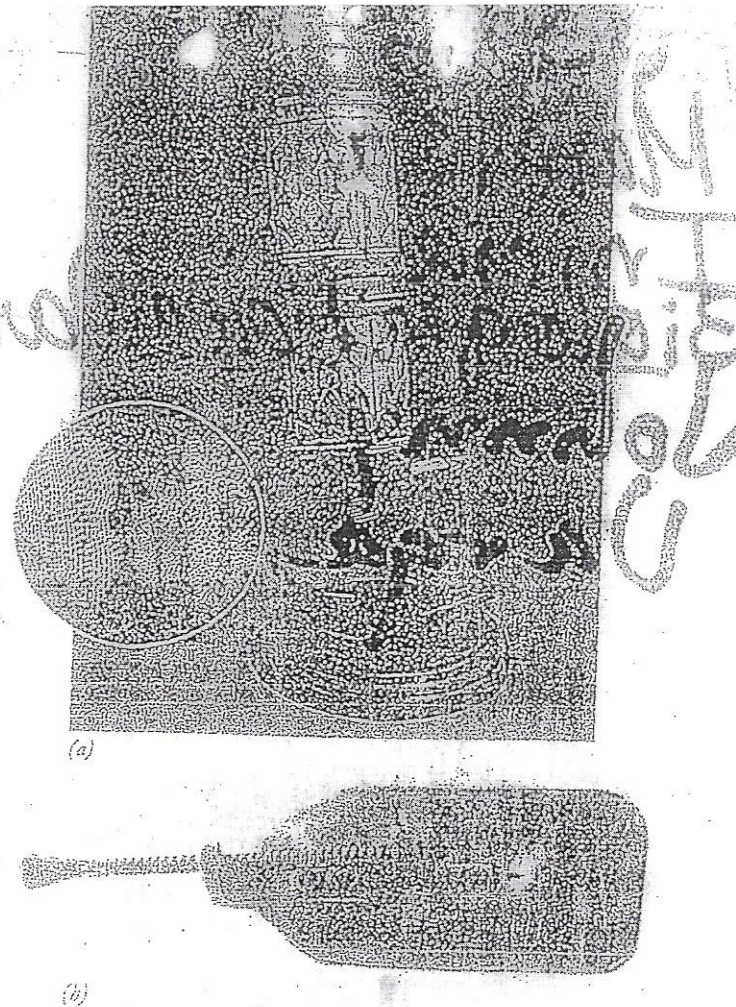


FIGURA 1-1 El descubrimiento de las células. (a) Uno de los microscopios compuestos (con doble lente) más vistosos de Robert Hooke. Recuadro, dibujo realizado por Hooke de un corte delgado de corcho que muestra una red de "células" parecida a un panal de abejas. (b) Microscopio de una sola lente, usado por Anton van Leeuwenhoek para observar bacterias y otros microorganismos. Las lentes biconvexas, capaces de aumentar el tamaño de un objeto en cerca de 270 veces y proveer una resolución cercana a 1.35  $\mu\text{m}$ , estaban sostenidas entre dos placas metálicas. (TOMADA DE THE GRANGER COLLECTION; RECUADRO Y FIG. 1-1b TOMADOS DE CORBIS BETTMANN.)

hechas de células y que el embrión de la planta proviene de una sola célula. En 1839, Theodor Schwann, un zoólogo alemán y colega de Schleiden, publicó un informe detallado sobre las bases celulares del mundo animal. Schwann concluyó que las células de plantas y animales son estructuras similares y propuso estos dos principios de la teoría celular:

- Todos los organismos están compuestos de una o más células.
- La célula es la unidad estructural de la vida.

Las ideas de Schleiden y Schwann sobre el origen de las células son menos profundas; ambos están de acuerdo que éstas podrían originarse de materiales acelulares. Dada la importancia que tuvieron estos dos investigadores en el mundo científico, fue necesario que pasaran muchos años para que las observaciones de otros



spontánea, se aceptarían. Para 1855, el patólogo alemán Rudolf Virchow había formulado un argumento convincente para el tercer postulado de la teoría celular:

- Las células sólo pueden originarse por división de una célula preexistente.

## 1.2 PROPIEDADES BÁSICAS DE LAS CÉLULAS

Las células, así como las plantas y los animales, tienen vida. En realidad, la vida es la propiedad básica de las células y éstas son las unidades más pequeñas que poseen tal naturaleza. A diferencia de las partes de una célula, las cuales se deterioran si se encuentran aisladas, las células completas pueden obtenerse de una planta o animal y cultivarse en un laboratorio donde se multiplican y crecen por periodos largos de tiempo. Si no se las trata de modo adecuado pueden morir. La muerte puede considerarse una de las propiedades básicas de la vida porque sólo una entidad viva enfrenta esta perspectiva. Resulta importante señalar que las células dentro del organismo mueren casi siempre "por su propia mano", es decir, son víctimas de un programa interno por el cual las células innecesarias o aquellas que tienen el riesgo de tornarse malignas se eliminan a sí mismas.

El primer cultivo de células humanas lo iniciaron George y Martha Gey de la *Johns Hopkins University* en 1951. Las células se obtuvieron de un tumor maligno que provenía de Henrietta Lacks y, por lo tanto, se denominaron células HeLa. Las células HeLa, descendientes por división celular de esa primera muestra de células, continúan creciendo en la actualidad en diferentes laboratorios del mundo (fig. 1-2). Como estas células son más fáciles

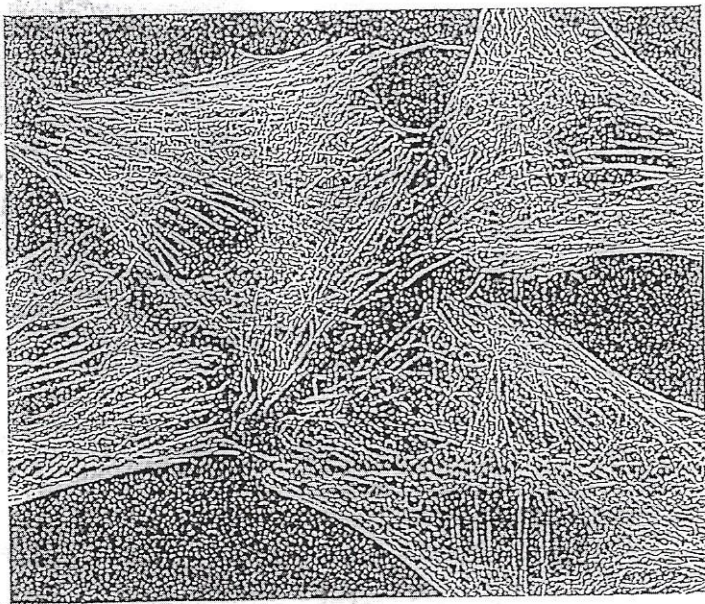


FIGURA 1-2 Las células HeLa, como las que se muestran, fueron las primeras células humanas mantenidas en cultivo por periodos largos de tiempo y aún se utilizan en la actualidad. A diferencia de las células normales que en cultivo tienen un tiempo de vida finito, las células HeLa cancerosas pueden cultivarse de forma indefinida si las condiciones son favorables para mantener el crecimiento y división celulares. (TORSTEN WITTMANN/PHOTO RESEARCHERS INC.)

crecen *in vitro* (es decir, en un cultivo fuertemente controlado) se han convertido en una herramienta esencial y moleculares. De hecho, mucha de la información contenida en este libro se obtuvo de células crecidas en cultivo.

La exploración de la célula comienza con el análisis de sus propiedades fundamentales.

### Las células son muy complejas y organizadas

La complejidad es una propiedad que es evidente cuando se encuentra, pero que es difícil de describir. En este momento es posible pensar sobre la complejidad en términos de orden y consistencia. Cuanto más compleja sea una estructura, mayor es el número de partes que deben estar en el lugar adecuado, menor la tolerancia a errores en la naturaleza e interacciones de las partes y mayor la regulación o control que se debe ejercer para mantener el sistema. Las actividades celulares pueden ser extremadamente precisas. Por ejemplo, la replicación del DNA (ácido desoxirribonucleico) se realiza con una tasa de error inferior a un error por cada 10 millones de nucleótidos incorporados, y la mayoría de tales errores se corrigen con rapidez por un intrincado mecanismo de reparación que reconoce el defecto.

A lo largo de este libro se considera la complejidad de la vida en diferentes niveles. Se describen la organización de átomos dentro de moléculas pequeñas, la disposición de estas moléculas dentro de polímeros gigantes y el arreglo de moléculas poliméricas en complejos, los cuales a su vez están dispuestos dentro de organelos subcelulares y al final en el interior de células. Como se observa, existe una gran consistencia en todos los niveles. Cada tipo de célula tiene un aspecto consistente cuando se observa bajo un microscopio electrónico de alta resolución; es decir, sus organelos tienen una forma y ubicación particular, de una especie individual a otra. De manera semejante, cada tipo de organelo muestra una composición constante de macromoléculas que están ordenadas siguiendo un patrón predecible. Considérese a las células que se encuentran en el intestino y que se encargan de obtener los nutrimentos en el tubo digestivo (fig. 1-3).

Las células epiteliales que recubren el intestino están unidas de manera estrecha y semejan los ladrillos de una pared. Los extremos apicales de estas células, que se dirigen hacia la luz intestinal, tienen elongaciones (*microvellosidades*) que facilitan la absorción de nutrimentos. Las microvellosidades son capaces de proyectarse hacia afuera de la superficie celular apical porque contienen un citoesqueleto interno constituido por filamentos, los cuales a su vez están compuestos de monómeros de proteína (*actina*) polimerizados en una disposición característica. En su extremo basal, las células intestinales poseen gran cantidad de mitocondrias que proveen la energía necesaria para alimentar varios procesos de transporte de membrana. Cada mitocondria se compone de un patrón definido de membranas internas, las cuales a su vez están compuestas por una estructura proteínica, que incluye un mecanismo de síntesis de ATP (trifosfato de adenosina) que funciona con un gradiente de electrones y dicha estructura se proyecta de la membrana interna con una conformación similar a una barra con una esfera en su extremo. Cada uno de estos niveles de organización se ilustra en los recuadros de la figura 1-3.

Por fortuna para los biólogos celulares y moleculares, la evolución avanza con lentitud en los niveles de la organización bio-



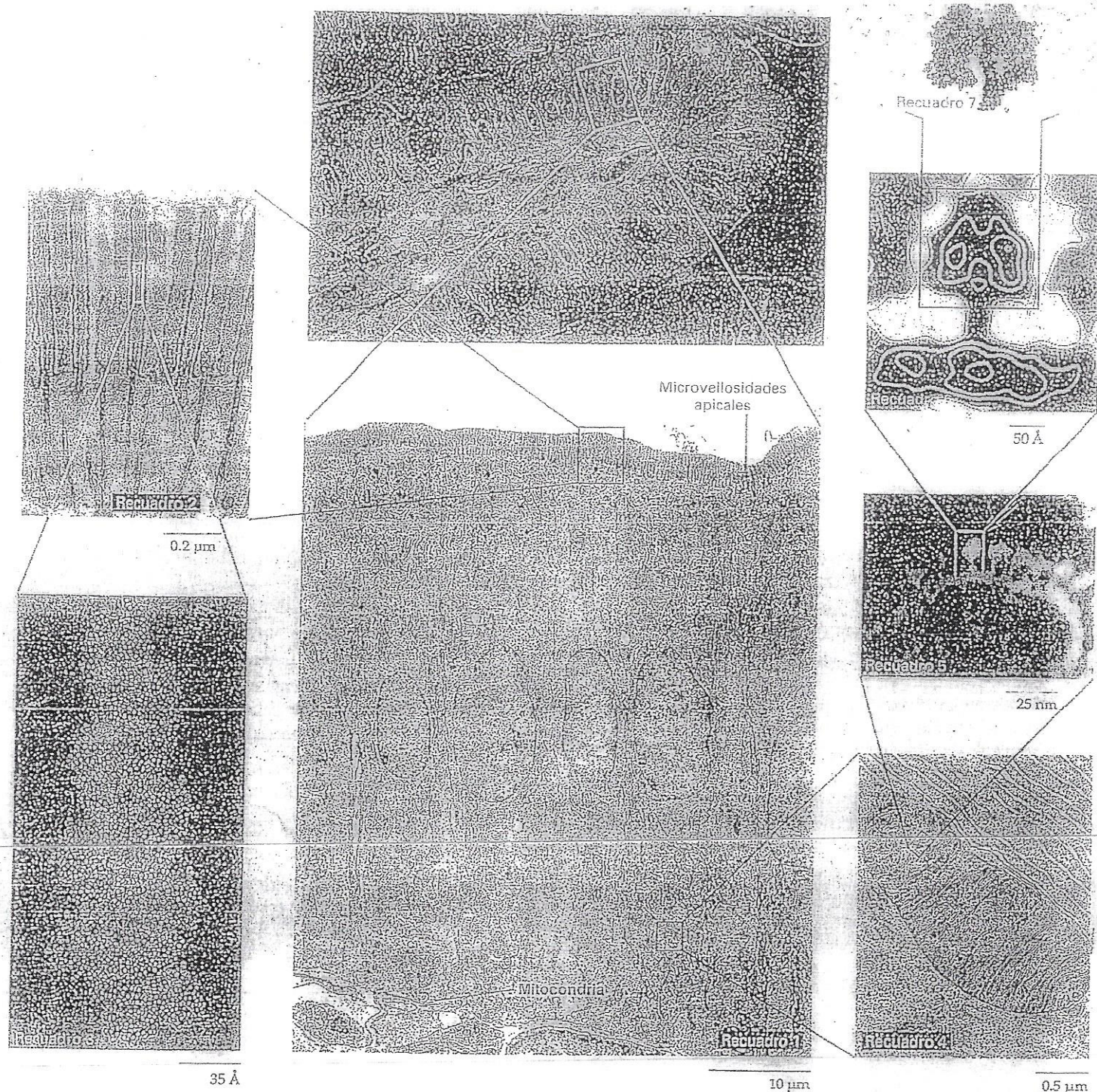


FIGURA 1-3 Niveles de organización celular y molecular. La fotografía en colores brillantes de una sección teñida muestra la estructura microscópica de una vellosidad de la mucosa del intestino delgado, como se observa a través del microscopio óptico. El recuadro 1 representa una micrografía electrónica de la capa epitelial de células que limitan la pared interior del intestino. La superficie apical de cada célula que mira hacia la luz intestinal tiene un gran número de microvellosidades que intervienen en la absorción de nutrientes. La región basal de cada célula contiene un gran número de mitocondrias en las que la energía se mantiene disponible para las actividades celulares. El recuadro 2 muestra las microvellosidades apicales; cada microvellosidad contiene un haz de microfilamentos. El recuadro 3 representa las subunidades de la proteína actina que forman parte de cada filamento. En el recuadro 4 se distingue una mitocondria similar a la encontrada en la región basal de las células epiteliales. El recuadro 5 señala una porción de

la membrana interna de las mitocondrias, incluidas las partículas pediculadas (flecha superior) que se proyectan a partir de la membrana y corresponden a los sitios donde se sintetiza el ATP. Los recuadros 6 y 7 muestran los modelos moleculares de la maquinaria de síntesis de ATP, la cual se describe por completo en el capítulo 5. (MICROGRAFÍA DE LUZ, CBCIL Fox/PHOTO RESEARCHERS; RECUADRO 1, CORTESÍA DE SHAKTI P. KAPUR, GEORGETOWN UNIVERSITY MEDICAL CENTER; RECUADRO 2, CORTESÍA DE MARK S. MOOSEKER AND LEWIS G. TILNEY, J CELL BIOL. 67:729, 1975, CON AUTORIZACIÓN DE LA ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS; RECUADRO 3, CORTESÍA DE KENNETH C. HOLMES; RECUADRO 4, CORTESÍA DE KEITH R. PORTER/PHOTO RESEARCHERS; RECUADRO 5, CORTESÍA DE HUMBERTO FERNÁNDEZ-MORAN; RECUADRO 6, CORTESÍA DE RODERICK A. CAPALDI; RECUADRO 7, CORTESÍA DE WOLFGANG JUNGE, HOLGER LILJY SIEGFRIED ENGELBRECHT, UNIVERSITY OF OSNABRÜCK, ALEMANIA.)



y, un gato tienen características anatómicas muy diferentes, las células que conforman sus tejidos y los organelos que integran sus células son semejantes. El filamento de actina que se representa en la figura 1-3, recuadro 3, y la enzima sintasa de ATP que se observa en el recuadro 6, son idénticos a las estructuras encontradas en diferentes organismos, como seres humanos, caracoles, levaduras y secuoyas. La información obtenida del estudio de las células de un tipo de organismo tiene a menudo aplicaciones directas en otras formas de vida. Muchos de los procesos más elementales, como la síntesis de proteínas, la conversión de energía química o la construcción de una membrana, son muy parecidos en todos los organismos.

### Las células poseen un programa genético y los medios para usarlo

Los organismos están contruidos de acuerdo con la información codificada en un grupo de genes. El programa genético humano contiene suficiente información para llenar millones de páginas de un texto, si se codificara en palabras. Resulta relevante que esta gran cantidad de información está empaquetada dentro de un grupo de cromosomas que ocupan el espacio del núcleo celular: cientos de veces más pequeño que el punto de esta i.

Los genes son más que gavetas para almacenar información: constituyen los planos para construir las estructuras celulares, las instrucciones para llevar a cabo las actividades celulares y el programa para duplicarse. La estructura molecular de los genes permite, mediante cambios en la información genética (mutaciones), que exista variación entre individuos, lo cual forma la base de la evolución biológica. El descubrimiento de los mecanismos por los cuales las células usan su información genética es uno de los logros más grandes de la ciencia en las últimas décadas.

### Las células son capaces de reproducirse

Las células, al igual que otros organismos, se generan por reproducción. Las células se reproducen por división, un proceso en el cual el contenido de una célula "madre" se distribuye dentro de dos células "hijas". Antes de la división, el material genético se duplica con éxito y cada célula hija comparte la misma información genética. En la mayoría de los casos, las dos células hijas tienen el mismo volumen. Sin embargo, en algunos casos, como ocurre cuando un oocito humano sufre división, una de las células retiene casi todo el citoplasma, aunque ésta reciba sólo la mitad del material genético (fig. 1-4).

### Las células obtienen y utilizan energía

Cada proceso biológico requiere del consumo de energía. De manera virtual, toda la energía necesaria para la vida en la superficie de la Tierra proviene de la radiación electromagnética del Sol. Esta energía es captada por los pigmentos que absorben luz presentes en las membranas de las células fotosintéticas (fig. 1-5). La energía luminosa se convierte por fotosíntesis en energía química, que se almacena en forma de carbohidratos ricos en energía, como almidón y sacarosa. Para la mayoría de las células animales, la energía llega a menudo "preempacada" en forma de glucosa. En las personas, la glucosa se libera del hígado hacia la

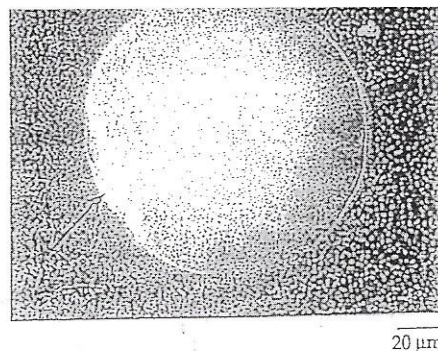


FIGURA 1-4 Reproducción celular. Este oocito de mamífero experimentó en forma reciente una división celular muy desigual en la cual la mayor parte del citoplasma se retuvo dentro del gran oocito, que tiene el potencial para fecundarse y desarrollar un embrión. La otra célula es un remanente no funcional que consiste casi en su totalidad de material nuclear (se indica por los cromosomas teñidos de azul, flecha). (CORTESÍA DE JONATHAN VAN BLERKOM.)

sangre, que circula en el cuerpo y libera energía química para todas las células. Una vez dentro de la célula, la glucosa se desensambla de tal manera que su contenido energético se puede almacenar en forma de energía disponible con rapidez (por lo general como ATP), que más tarde se utiliza para el funcionamiento de las innumerables actividades celulares que necesitan energía. Las células invierten una enorme cantidad de energía tan sólo en degradar y reconstruir las macromoléculas y los organelos de los que están hechas. Este continuo "recambio", como se le llama, mantiene la integridad de los componentes celulares en virtud de los inevitables procesos de desgaste y rotura, y permite a la célula reaccionar con rapidez a las condiciones cambiantes.

### Las células llevan a cabo diferentes reacciones químicas

La función celular se asemeja a plantas químicas en miniatura. Aunque la célula bacteriana más simple es capaz de realizar cientos de transformaciones químicas diferentes, ninguna de ellas ocurre a una velocidad significativa en el mundo inanimado. Por lo general, todos los cambios químicos que se efectúan en las cé-

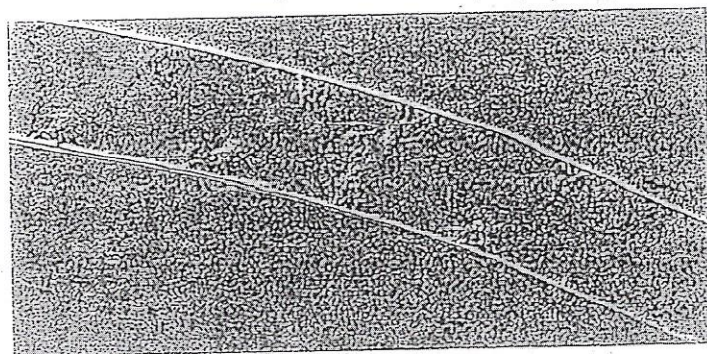


FIGURA 1-5 Captación de energía. Una célula viva del alga filamentosa *Spirogyra*. El cloroplasto es semejante a un listón, el cual se observa en zigzag a través de la célula y es el sitio donde se captura la energía de la luz solar y se convierte en energía química durante la fotosíntesis. (M.I. WALKER/PHOTO RESEARCHERS.)



a la que ocurre una reacción química. La suma total de las reacciones químicas en una célula representa el metabolismo celular.

### Las células se ocupan de numerosas actividades mecánicas

Las células son sitios de mucha actividad. Los materiales se transportan de un lugar a otro, las estructuras se acoplan y desacoplan con rapidez y, en muchos casos, la célula entera se mueve por sí misma de un punto a otro. Estos tipos de actividades se basan en cambios intracelulares mecánicos y dinámicos intracelulares, la mayoría de ellos iniciados por cambios en la estructura proteínica "motora". Las proteínas motoras son sólo uno de los muchos tipos de "máquinas" moleculares empleadas por la célula para llevar a cabo actividades mecánicas.

### Las células son capaces de reaccionar a estímulos

Algunas células responden a estímulos de manera obvia; por ejemplo, un protista unicelular se mueve lejos de un objeto que está en su camino o se dirige hacia una fuente de nutrimentos. Las células que conforman una planta o animal multicelulares no reaccionan a estímulos de modo tan obvio. La mayor parte de las células está cubierta de *receptores* que interactúan con sustancias en el ambiente en una forma muy específica. Las células poseen receptores para hormonas, factores de crecimiento, materiales extracelulares, así como sustancias localizadas en la superficie de otras células. Los receptores de las células proveen las vías a través de las cuales los agentes externos pueden iniciar reacciones específicas en la célula diana. Las células pueden responder a estímulos específicos por medio de la alteración de sus actividades metabólicas, al prepararse para la división celular, moverse de un lugar a otro o destruyéndose a sí mismas.

### Las células son capaces de autorregularse

Además de necesitar energía, el mantenimiento de un estado complejo y ordenado exige regulación constante. La importancia de los mecanismos de regulación celular es más evidente cuando las células se dañan. Por ejemplo, la falla de una célula para corregir un error cuando duplica su DNA puede crear una mutación que la debilita, o una alteración en el control de crecimiento celular, que puede transformar a la célula en una célula cancerosa con la capacidad para destruir a todo el organismo. Poco a poco se conoce más acerca de la forma en que la célula controla estas actividades, pero falta mucho por descubrir.

Considérese el siguiente experimento que llevó a cabo en 1891 Hans Driesch, un embriólogo alemán. Driesch encontró que podía separar por completo las primeras dos o cuatro células de un embrión de erizo de mar y que cada una de las células aisladas desarrollaba un embrión normal (fig. 1-6): ¿Cómo puede una célula que por lo general está destinada a formar sólo una parte del embrión regular sus propias actividades y formar un embrión entero?, ¿de qué forma la célula aislada reconoce la ausencia de sus vecinas y reorienta el curso de su desarrollo celular?, ¿cómo puede una parte del embrión tener un sentido del todo? Hasta el momento no es posible mejorar las respuestas que se dieron hace más de 100 años, cuando se realizó este experimento.

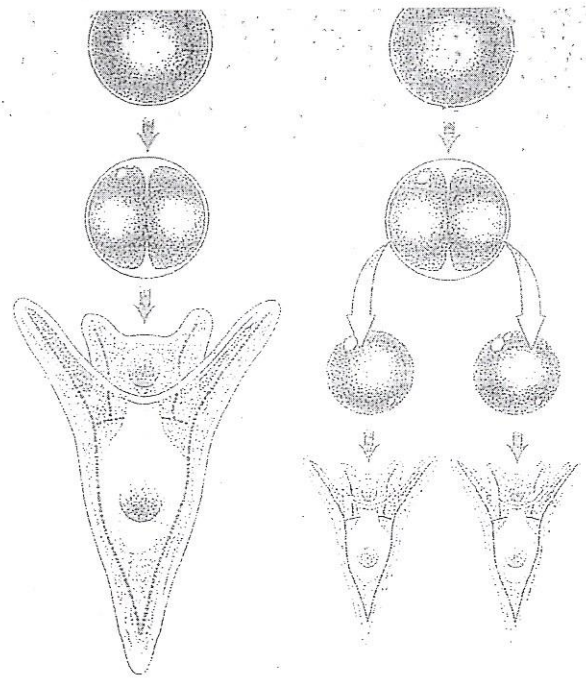


FIGURA 1-6 Autorregulación. El esquema de la izquierda muestra el desarrollo normal de un erizo de mar en el cual un huevo fecundado da lugar a un solo embrión. El esquema de la derecha señala un experimento en el que las células de un embrión se separan después de la primera división y se permite que cada célula se desarrolle de manera aislada. En lugar de desarrollarse la mitad de un embrión, como ocurriría si no se alterara, cada célula aislada reconoce la ausencia de su vecina y regula su desarrollo para formar un embrión completo (aunque más pequeño).

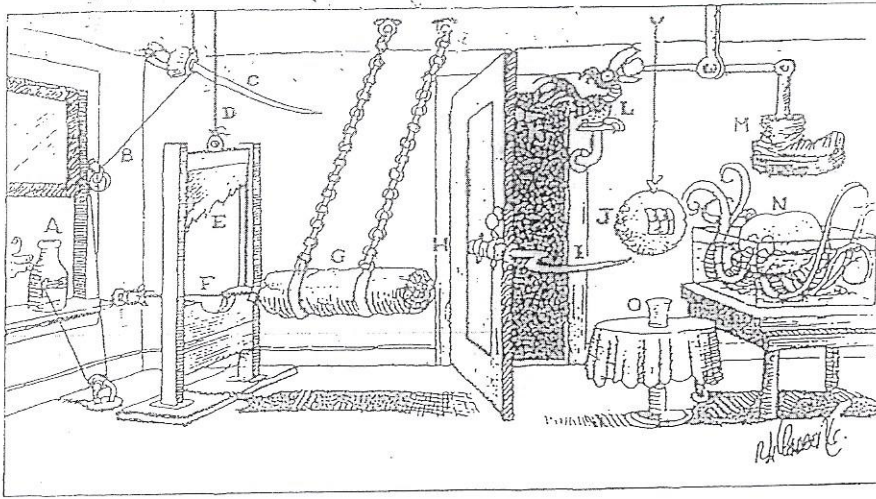
En este libro se describen procesos que requieren diversos pasos ordenados, muchos de los cuales son parecidos a las líneas de ensamble en el armado de un automóvil, donde los trabajadores acoplan, renuevan o hacen ajustes específicos conforme el armado del auto avanza. En la célula, la información para el diseño de productos reside en los ácidos nucleicos y los trabajadores de la construcción son sobre todo las proteínas. Más que ningún otro factor, la presencia de estos dos tipos de macromoléculas aparta a la química celular del mundo inerte. En la célula, los trabajadores tienen que actuar sin el beneficio de la dirección consciente. Cada paso de un proceso debe ocurrir de modo espontáneo, de forma que el siguiente paso se active de manera automática. En muchos sentidos, la célula opera de un modo análogo al artífice para exprimir una naranja, descubierto por "el profesor" y que se muestra en la figura 1-7. Cada tipo de actividad celular necesita un grupo único de máquinas y herramientas moleculares muy complejas: los productos de los periodos de la selección natural y su evolución. El objetivo más importante de los biólogos celulares y moleculares es entender la estructura molecular y la función de cada uno de los componentes que intervienen en una actividad particular, así como los medios por los cuales estos componentes interactúan y los mecanismos que regulan dichas interacciones.

### Las células evolucionan

¿Cómo surgieron las células? De todas las preguntas trascendentes formuladas por los biólogos, ésta es la que menos respuestas



# Máquina para obtener jugo de naranja



El profesor Butts cayó por el foso abierto de un elevador y cuando tocó tierra sólo encontró una máquina para exprimir naranjas. El lechero toma la botella de leche vacía (A) y jala de la cuerda (B), lo que provoca que la espada (C) corte la cuerda (D). Esto permite que la navaja de la guillotina (E) caiga y corte la cuerda (F), que a su vez libera el ariete (G). El ariete empuja la puerta abierta (H) y la cierra. La hoz (I) corta la naranja (J) y, al mismo tiempo, la espina (K) lastima al

"halcón" (L). Este último abre el pico por el dolor y suelta la ciruela y permite que el zapato (M) caiga sobre la cabeza de un pulpo dormido (N). El pulpo despierta molesto y observa la cara del buzo dibujada sobre la naranja y la oprime; de esa manera el jugo de naranja cae al vaso (O).

Después puede utilizarse el tronco para construir una cabaña en la que puede crecer su hijo, que llegará a ser presidente como Abraham Lincoln.

FIGURA 1-7 Las actividades celulares con frecuencia son análogas a esta máquina de Rube Goldberg en la cual un suceso activa "de manera automática" a otro posterior, en una secuencia de reacciones. (RUBE GOLDBERG™ Y © DE RUBE GOLDBERG, INC.)

tiene. Se piensa que las células proceden de algunas formas de vida precelular, las cuales a su vez se originaron de materiales orgánicos sin vida que estuvieron presentes en los océanos primordiales. Sin embargo, el origen de las células está envuelto en un misterio total; su evolución puede estudiarse por medio del análisis de los organismos vivos de la actualidad. Si se observan las características de las células bacterianas que viven en el tubo digestivo de los seres humanos (fig. 1-18a) y una célula que forma parte de la pared del intestino (fig. 1-3), son notorias las diferencias que existen entre estas dos. No obstante, proceden de una célula ancestral común que vivió hace más de tres mil millones de años. Tales estructuras que comparten las dos células relacionadas de forma distante, como su membrana celular y los ribosomas, debieron estar en la célula ancestral. En la sección Vías experimentales, al final del capítulo, se revisan algunos sucesos ocurridos durante la evolución de las células. Es preciso tener en mente que la evolución no es tan sólo un hecho del pasado, sino un proceso dinámico que aún modifica las propiedades de las células de los organismos que todavía no han aparecido.

## REVISION

1. Liste las propiedades fundamentales que comparten todas las células. Describa la importancia de cada una de estas propiedades.
2. Describa algunas de las características celulares que sugieran que todos los organismos vivos derivan de un ancestro común.
3. ¿Cuál es la fuente de energía que mantiene la vida en la Tierra?, ¿cómo se transfiere esta energía de un organismo a otro?

## 1.3 DOS CLASES DE CÉLULAS FUNDAMENTALMENTE DIFERENTES

Una vez que el microscopio electrónico estuvo disponible, los biólogos fueron capaces de examinar la estructura interna de una gran variedad de células. A partir de estos estudios se encontró que existen dos tipos básicos de células (procariotas y eucariotas) que se diferencian por su tamaño y tipos de estructuras internas u organelos (fig. 1-8).

La existencia de dos clases distintas de células, sin intermedios conocidos, constituye una de las divisiones de evolución más fundamentales en el mundo de la biología.

Las células procariotas, que en su estructura son más simples, incluyen a las bacterias, mientras que las células eucariotas tienen una estructura más compleja e incluyen a los protistas, hongos, plantas y animales.<sup>1</sup>

No se sabe con certeza cuándo aparecieron las células procariotas por primera vez en la Tierra. La evidencia de vida procariota se obtuvo de rocas con aproximadamente 2 700 millones de años de edad. Estas rocas no contienen tan sólo microbios fosilizados, sino también moléculas orgánicas complejas que son características de tipos particulares de organismos procariotas, incluidas las cianobacterias. Es improbable que tales moléculas se sintetizaran de manera abiótica, esto es, sin la participación de células vivas. Las cianobacterias aparecieron hace casi 2 400 millones de años, porque es cuando la atmósfera fue enriquecida

<sup>1</sup>El lector interesado en examinar una propuesta para acabar con el concepto antagónico de organismos procariotas y eucariotas puede leer un breve ensayo de N. R. Pace en *Nature* 441:289, 2006.



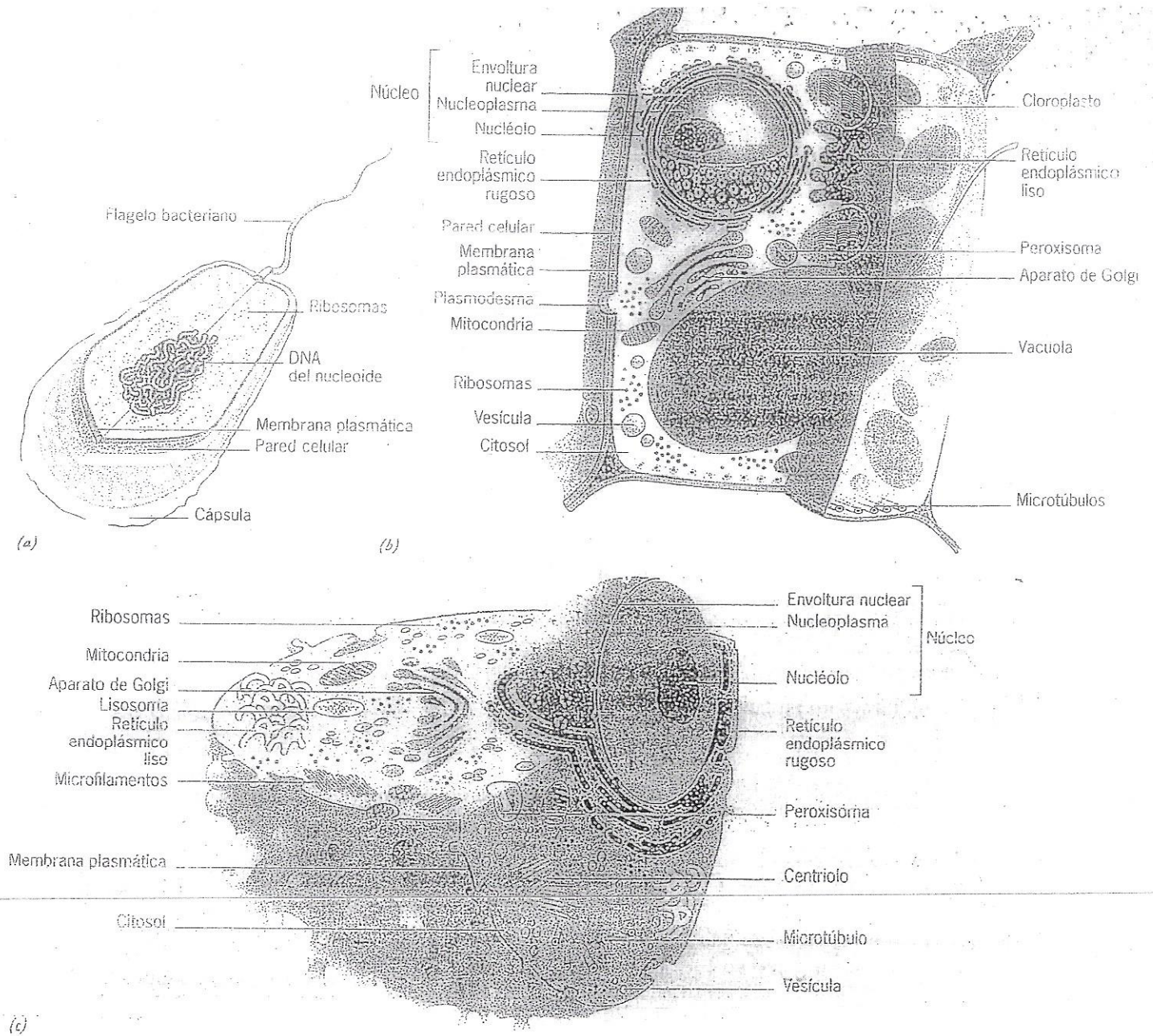


FIGURA 1-8 La estructura celular. Esquemas "generalizados" de una célula de bacteria (a), vegetal (b) y animal (c). Nota: los organelos no están dibujados a escala.

con oxígeno molecular ( $O_2$ ), que es un producto secundario de la actividad fotosintética de estas células procariotas.

El comienzo de las células eucariotas también está rodeado de incertidumbre. Los animales complejos aparecieron de forma más repentina en los registros fósiles hace unos 600 millones de años, pero hay muchas evidencias de que los organismos eucariotas más simples estuvieron presentes en la Tierra desde más de 1000 millones de años. El tiempo estimado de la aparición sobre la Tierra de algunos de los principales grupos de organismos se muestra en la figura 1-9. Una vista superficial de esta figura revela la manera en que la vida apareció "pronto" después de la formación de la Tierra y el enfriamiento de su superficie, así como el tiempo que tomó la subsecuente evolución de los animales complejos y plantas.

### Características que diferencian a las células procariotas de las eucariotas

La siguiente es una breve comparación entre células procariotas y eucariotas que hace evidentes muchas diferencias básicas entre los dos tipos, así como bastantes similitudes (fig. 1-8). Las semejanzas y diferencias entre los dos tipos de células se muestran en el cuadro 1-1. Las propiedades que comparten reflejan que las células eucariotas casi con certeza evolucionaron a partir de ancestros procariotas. A causa de su ancestro común, ambos tipos de células poseen un lenguaje genético idéntico, un grupo común de vías metabólicas y muchas propiedades estructurales comunes. Por ejemplo, los dos tipos celulares están limitados por membranas plasmáticas de estructura semejante que sirven como una barrera



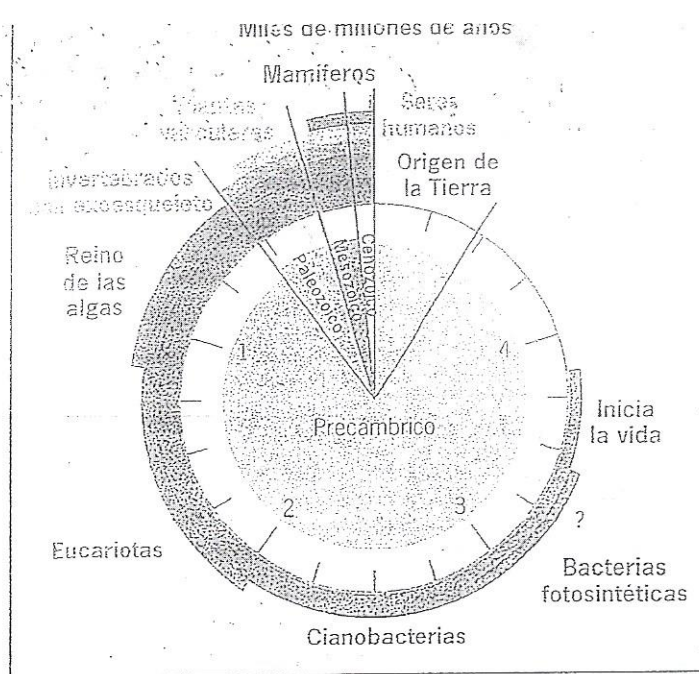


FIGURA 1-9 Reloj biogeológico de la Tierra. Una representación de los últimos 5000 millones de años en la historia del planeta Tierra muestran el tiempo propuesto de aparición de los principales grupos de microorganismos. Los animales complejos (invertebrados) y las plantas vasculares aparecieron relativamente en periodos recientes. El tiempo indicado para el origen de la vida está sujeto a conjetura. Además, las bacterias fotosintéticas pudieron aparecer de manera más temprana y por tanto permanece la interrogante. Las eras geológicas se indican en el centro de la ilustración. (REIMPRESA CON AUTORIZACIÓN DE D.J. DES MARAIS, SCIENCE 289:1704, 2001. COPYRIGHT © 2000 AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE.)

de permeabilidad selectiva entre los mundos vivo e inerte. Ambos tipos de células pueden estar recubiertos por una *pared celular* rígida y sin vida que protege la delicada vida de su interior. Aunque las paredes celulares de procariotas y eucariotas pueden tener funciones semejantes, su composición química es muy diferente.

En su interior, las células eucariotas son mucho más complejas (en estructura y función) que las procariotas (fig. 1-8). La diferencia en complejidad estructural es evidente en las micrografías electrónicas de una célula bacteriana y una animal que se muestran en las figuras 1-18a y 1-10, de manera respectiva. Ambas contienen una región nuclear, la cual posee el material genético de la célula rodeado por citoplasma. El material genético de la célula procariota está presente en un nucleóide: una región de la célula no bien delimitada, sin membrana, que lo separa del citoplasma circundante. En cambio, las eucariotas poseen un núcleo: una región separada por una estructura membranosa compleja llamada *envoltura nuclear*. Esta diferencia de la estructura nuclear es la base de los términos *procariota* (*pro*, antes; *karyon*, núcleo) y *eucariota* (*eu*, verdadero; *karyon*, núcleo). Las células procariotas contienen relativamente pequeñas cantidades de DNA; el contenido del DNA de una bacteria se encuentra en los límites de 600 000 a 8 millones de pares de bases, lo cual es suficiente para codificar entre unas 500 y varios miles de proteínas.<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Ocho millones de pares de bases equivalen a una molécula de DNA de alrededor de 3 mm de largo.

## y eucariotas

### Características comunes:

- Membrana plasmática de estructura similar
- Información genética codificada en el DNA mediante códigos genéticos idénticos
- Mecanismos similares para la transcripción y traducción de la información genética, incluidos ribosomas semejantes
- Rutas metabólicas compartidas (p. ej., glucólisis y ciclo de los ácidos tricarboxílicos [TCA])
- Aparato similar para la conservación de la energía química en forma de ATP (localizado en la membrana plasmática de procariotas y en la membrana mitocondrial de eucariotas)
- Mecanismos semejantes para la fotosíntesis (entre cianobacterias y plantas verdes)
- Mecanismos parecidos para sintetizar e insertar las proteínas de membrana
- Estructura similar (entre arqueobacterias y eucariotas) de protocomas (estructuras para la digestión de proteínas)

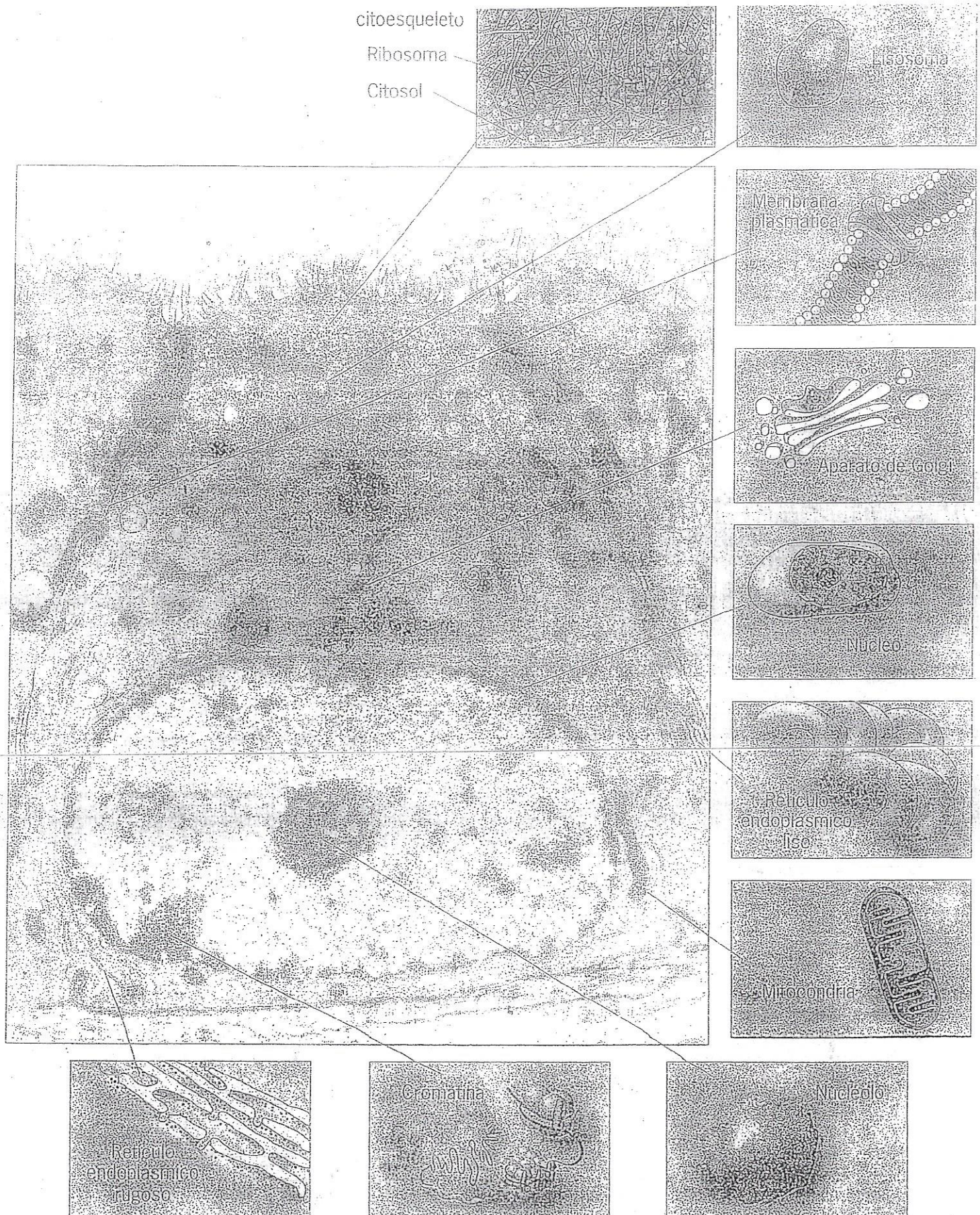
### Características de las células eucariotas que no se encuentran en procariotas:

- División de la célula en núcleo y citoplasma, separados por una envoltura nuclear que contiene estructuras complejas de poros
- Los cromosomas son complejos y están compuestos por DNA y proteínas relacionadas capaces de compactarse en estructuras mitóticas
- Organelos citoplásmicos membranosos complejos (incluidos el retículo endoplásmico, aparato de Golgi, lisosomas, endosomas, peroxisomas y glioxisomas)
- Organelos citoplásmicos especializados para la respiración aerobia (mitocondrias) y fotosíntesis (cloroplastos)
- Un sistema complejo de citoesqueleto (incluidos microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos) y asociado con proteínas motoras
- Cilios y flagelos complejos
- Son capaces de ingerir materiales líquidos y sólidos y atraparlos dentro de vesículas membranosas plasmáticas (endocitosis y fagocitosis)
- Paredes celulares (en plantas) que contienen celulosa
- La división celular utiliza un huso mitótico que contiene microtúbulos para separar cromosomas
- Presencia de dos copias de genes por célula (diploidia), un gen que proviene de cada padre
- Presencia de tres enzimas diferentes para sintetizar RNA (polimerasas de RNA)
- Reproducción sexual que requiere meiosis y fecundación

Aunque una "simple" levadura de panadería tiene sólo un poco más DNA (12 millones de pares de bases que codifican cerca de 6200 proteínas) que los procariotas más complejos, la mayor parte de las células eucariotas poseen mucha más información genética. Las células procariotas y las eucariotas poseen cromosomas que contienen DNA. Las eucariotas muestran un número determinado de cromosomas separados, cada uno de los cuales posee una sola molécula lineal de DNA. En cambio, casi todas las procariotas que se han estudiado contienen un cromosoma circular único. Lo más importante es que, el DNA cromosómico de las eucariotas, a diferencia del de las procariotas, se relaciona estrechamente con proteínas para formar un material nucleoproteínico complejo que se conoce como cromatina.

El citoplasma de los dos tipos de células también es muy diferente. El de una célula eucariota se conforma con una gran diversidad de estructuras, como es evidente por el análisis de micrografías electrónicas de cualquier célula vegetal o animal (fig. 1-10). Incluso las levaduras, las células eucariotas más simples, son mu-





**FIGURA 1-10** La estructura de una célula eucariota. Esta célula epitelial limita el conducto reproductivo en la rata macho. En los diagramas esquemáticos, alrededor de la figura principal, se indican y muestran algunos organelos diferentes. (DAVID PHILLIPS/VISUALS UNLIMITED.)



cho más complejas desde el punto de vista estructural que una bacteria promedio (compárese la fig. 1-18a y b); aunque estos dos organismos poseen un número similar de genes. Las células eucariotas tienen una disposición de organelos limitados por membrana. Los organelos eucariotas incluyen mitocondria, donde la energía química está disponible para alimentar las actividades celulares; un retículo endoplásmico, en donde se elaboran muchas de las proteínas y lípidos de la célula; el aparato de Golgi es el lugar en el que los materiales se clasifican, modifican y transportan a destinos celulares específicos, además de diferentes vesículas simples, limitadas por membranas de tamaños diferentes. Las células vegetales muestran organelos membranosos adicionales, incluidos los cloroplastos, que son los sitios en los que se realiza la fotosíntesis, y muchas veces una gran vacuola única que puede ocupar la mayor parte del volumen celular. Tomadas como un grupo, las membranas celulares eucariotas sirven para dividir el citoplasma en compartimientos, dentro de los cuales se llevan a cabo actividades especializadas. En cambio, el citoplasma de las células procariotas está libre en esencia de estructuras membranosas. Las membranas fotosintéticas complejas de la cianobacteria son una gran excepción a esta generalización (fig. 1-15).

Las membranas citoplásmicas de las células eucariotas forman un sistema de canales interconectados y vesículas que trabajan en el transporte de sustancias de una parte a otra de la célula y entre su interior y el ambiente. A causa de su tamaño pequeño, la comunicación directa intracitoplásmica es menos importante en las células procariotas, en las que el flujo de materiales puede efectuarse por difusión simple.

Las células eucariotas también contienen numerosas estructuras sin membrana celular que las limite. Los túbulos alargados y filamentos del citoesqueleto están incluidos en este grupo y participan en la contractilidad celular, movimiento y soporte. Hasta hace poco tiempo se pensó que las células procariotas carecían de un citoesqueleto, pero se encontraron en algunas bacterias filamentos de citoesqueleto primitivo. Por el momento es posible afirmar que el citoesqueleto de los procariotas es mucho más simple en sentidos estructural y funcional en comparación con los eucariotas. Ambos tipos de células tienen ribosomas que son partículas no membranosas y funcionan como "mesas de trabajo" sobre las cuales las proteínas de las células se elaboran. Aunque los ribosomas de las células procariotas y eucariotas poseen dimensiones considerables (los procariotas son más pequeños e incluyen muchos menos componentes), estas estructuras participan en el ensamblaje de proteínas con un mecanismo similar en ambos tipos de células. La figura 1-11 muestra una micrografía electrónica con seudocolor de una porción del extremo citoplásmico de un organismo eucariota unicelular. Ésta es una región de la célula en la que los organelos limitados por membrana tienden a estar ausentes. La micrografía muestra filamentos individuales de citoesqueleto (rojo) y otros complejos macromoleculares grandes del citoplasma (verde). Casi todos estos complejos son ribosomas. Este tipo de imagen hace evidente que el citoplasma de una célula eucariota está lleno, lo cual deja poco espacio para la fase soluble del citoplasma, el citosol.

Otras diferencias relevantes pueden reconocerse entre las células eucariotas y procariotas. Las primeras se dividen por un proceso complejo de mitosis, en el cual los cromosomas duplicados se condensan en estructuras compactas separadas por un sistema que contiene microtúbulos (fig. 1-12). Este aparato, que

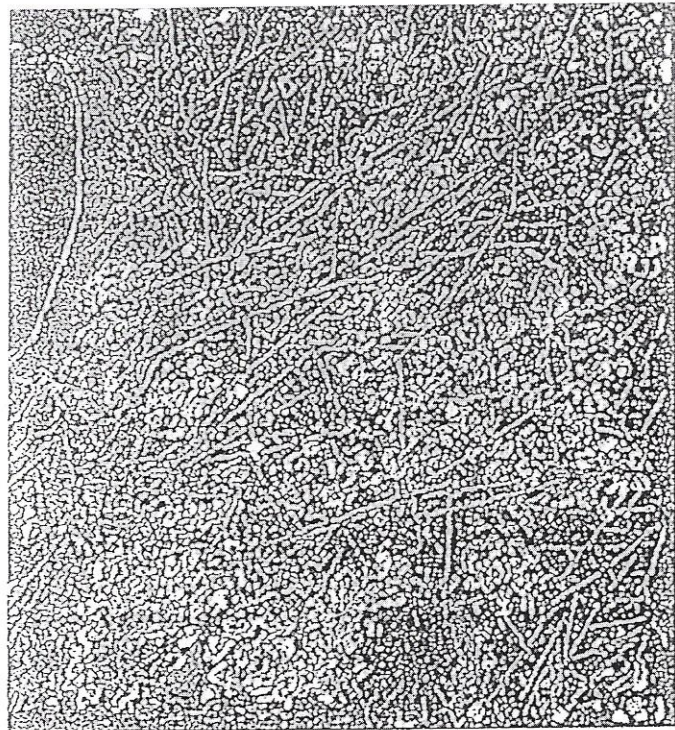
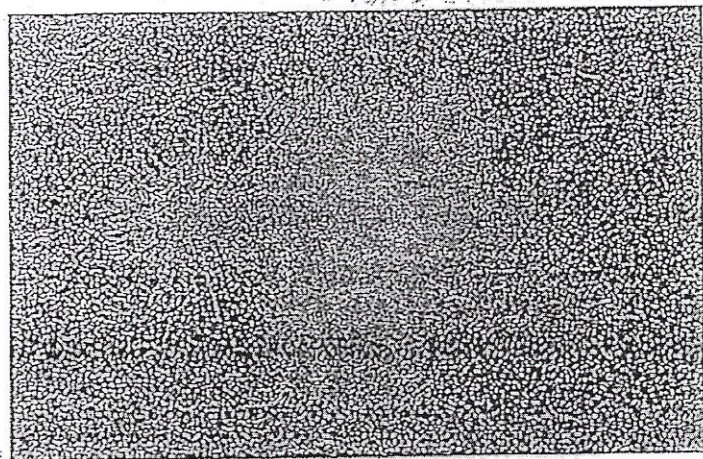


FIGURA 1-11 El citoplasma de una célula eucariota es un compartimiento saturado. Esta micrografía electrónica coloreada muestra una pequeña región cercana al borde de un organismo eucariota unicelular que se congeló de manera instantánea para su análisis microscópico. La apariencia tridimensional que se observa fue posible por medio de la captura de imágenes digitalizadas bidimensionales del espécimen en diferentes ángulos y la sobreposición de ellas con una computadora. Los filamentos del citoesqueleto se muestran en rojo, los complejos macromoleculares (sobre todo ribosomas) en verde y las membranas celulares en azul. (REIMPRESA CON AUTORIZACIÓN DE OHAD MEDALIA, ET AL., SCIENCE 298:1211, 2002, CORTESÍA DE WOLFGANG BAUMEISTER, COPYRIGHT © 2002 AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE.)



4 μm

FIGURA 1-12 La división celular en eucariotas requiere el ensamble de un aparato muy elaborado llamado huso mitótico, que separa a los cromosomas y está construido sobre todo por microtúbulos. En esta micrografía, los microtúbulos aparecen en verde porque están enlazados de manera específica por un anticuerpo unido a un colorante verde fluorescente. Los cromosomas, que casi se habían separado en dos células hijas cuando se fijó dicha célula, están teñidos de azul. (CORTESÍA DE CONLY L. RIEDER.)



una cantidad equivalente de material genético. En los procariotas no hay compactación de los cromosomas ni huso mitótico. El DNA se duplica y las dos copias se separan de manera sencilla y precisa por el desarrollo de una membrana celular entre las dos.

La mayor parte de los procariotas corresponde a organismos asexuados, ya que sólo contienen una copia de su único cromosoma y carecen de procesos comparables a la meiosis, formación de gametos o fecundación verdadera. Aunque en los procariotas no hay una reproducción sexual verdadera, algunos son capaces de tener *conjugación*, en la cual un fragmento de DNA se transfiere de una célula a otra (fig. 1-13). Sin embargo, la célula receptora casi nunca recibe un cromosoma completo de la célula donadora y el estado en el cual la célula receptora contiene su DNA y el de su compañera es transitorio, ya que la célula regresa pronto a su condición de un solo cromosoma. Aunque los procariotas no suelen ser tan eficientes como los eucariotas en el intercambio de DNA con otros miembros de su propia especie, captan e incorporan DNA ajeno que se encuentra en el ambiente con más frecuencia que los eucariotas, lo cual ha tenido considerable impacto en la evolución microbiana (pág. 28).

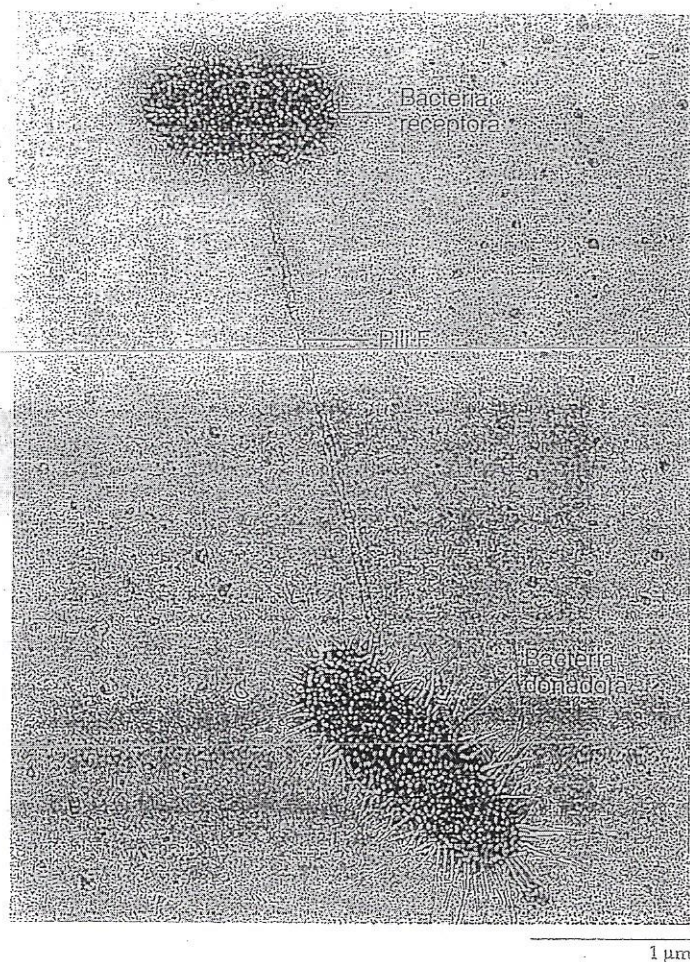


FIGURA 1-13 Conjugación bacteriana. Micrografía electrónica que muestra un par de bacterias en conjugación unido por una estructura de la célula donadora conocida como fimbria o pili F, a través de la cual se transfiere el DNA. (CORTESÍA DE CHARLES C. BRINTON, JR., Y JUDITH CARNAHAN.)

de locomoción compleja, mientras que los de los procariotas son relativamente sencillos. El movimiento de una célula procariota se lleva a cabo mediante un filamento delgado de proteína llamado *flagelo*, el cual sobresale de una célula y es capaz de girar (fig. 1-14a). Las rotaciones de este flagelo que pueden sobrepasar 1000 veces por segundo ejercen presión sobre el líquido circundante, impulsando la célula a través de su entorno. Algunas células eucariotas, incluidas muchos protistas y células germinales, también poseen flagelos, pero las versiones eucariotas son mucho más complejas que los filamentos proteicos simples de las bacterias (fig. 1-14b), y el movimiento lo genera un mecanismo diferente.

En los párrafos anteriores se mencionaron varias de las diferencias más relevantes entre los niveles de organización celular procariota y eucariota. Se revisan muchos de estos puntos en capítulos posteriores. Antes de asegurar que los procariotas son inferiores, se debe considerar que estos organismos han permanecido en la Tierra por más de 3000 millones de años y en este momento millones de ellos se encuentran sobre la superficie del cuerpo humano o consumen en abundancia los nutrientes que se hallan en el tubo digestivo. Por lo común se considera a estos microorganismos como criaturas individuales y solitarias, pero descubrimientos recientes mostraron que viven en complejas comunidades multiespecíficas llamadas *biopelículas*. Un ejemplo de biopelícula es la placa que cubre nuestros dientes. Las diferentes células en una biopelícula pueden realizar diferentes actividades especializadas, lo cual no difiere de lo que ocurre en el caso de las células de una planta o un animal. Obsérvese también que, desde el punto de vista metabólico, los procariotas son organismos muy complejos y muy evolucionados. Por ejemplo, una bacteria como *Escherichia coli*, un habitante común del tubo digestivo de los seres humanos y las cajas de cultivo del laboratorio, tiene la capacidad de vivir y prosperar en un medio que contiene uno o dos compuestos orgánicos de bajo peso molecular y pocos iones inorgánicos. Otras bacterias son capaces de vivir con una dieta que sólo consiste en sustancias inorgánicas. Se ha identificado una especie de bacteria en pozos de miles de metros de profundidad que vivía en rocas basálticas y producía hidrógeno molecular ( $H_2$ ) debido a las reacciones inorgánicas que llevaba a cabo. Por otro lado, las células eucariotas que tienen mayor capacidad metabólica requieren gran variedad de compuestos orgánicos, incluidos un gran número de vitaminas y otras sustancias esenciales que ellas no pueden sintetizar por sí mismas. De hecho, muchos de estos componentes esenciales de la dieta los producen las bacterias que habitualmente viven en el intestino grueso.

### Tipos de células procariotas

Las diferencias entre las células procariotas y eucariotas se basan de manera principal en su complejidad estructural (como se detalla en el cuadro 1-1) y no en las relaciones filogenéticas. Los procariotas están divididos en dos grandes grupos taxonómicos o dominios: Archaea (arqueobacterias) y Bacteria (o eubacterias). De acuerdo con la opinión actual, los miembros de la arqueobacteria se vinculan de forma más estrecha con los eucariotas respecto de otros grupos de procariotas (Bacteria). Los experimentos que llevaron a descubrir que la vida está representada por tres distintas ramas se revisan en la sección Vías experimentales al final del capítulo.



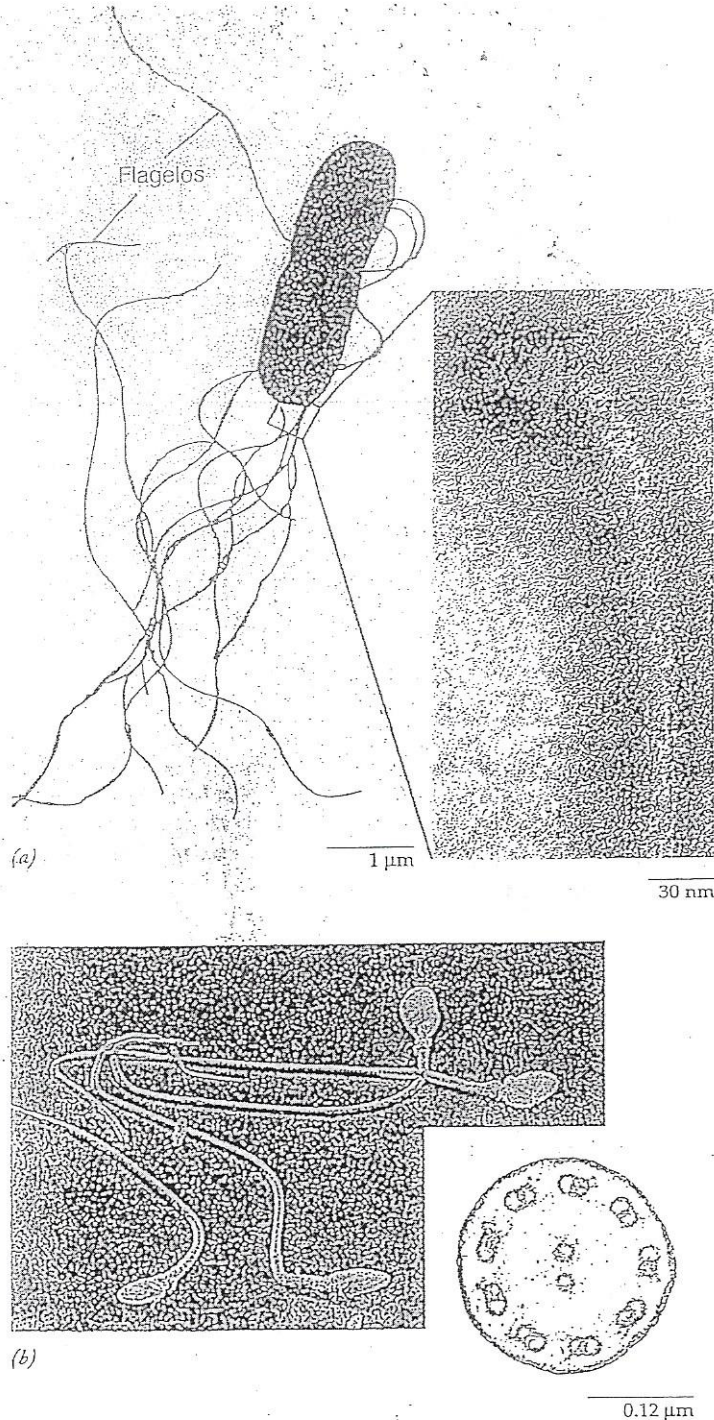


FIGURA 1-14 Diferencia entre flagelos procariotas y eucariotas. (a) La bacteria *Salmonella* con sus numerosos flagelos. El recuadro muestra una vista amplificada a gran aumento de una parte del flagelo bacteriano único, que consta sobre todo de una sola proteína llamada flagelina. (b) Cada uno de estos espermatozoides humanos está provisto de un movimiento ondulatorio de un flagelo único. El recuadro representa una sección transversal del flagelo de un espermatozoide de mamífero cerca de la punta. Los flagelos de las células eucariotas son tan parecidos que esta sección transversal podría ser la de un protista o un alga verde. (A: TOMADA DE BERNARD R. GERBER, LEWIS M. ROUTLEDGE, Y SHIRO TAKASHIMA, J MOL BIOL 71:322, 1972. © 1972, CON AUTORIZACIÓN DE PUBLISHER ACADEMIC PRESS; RECUADRO, CORTEÍA DE JULIUS ADLER Y M.L. DePAMPHILIS; B: DAVID M. PHILLIPS/VISUALS UNLIMITED; RECUADRO TOMADO DE DON W. FAWCETT/VISUALS UNLIMITED.)

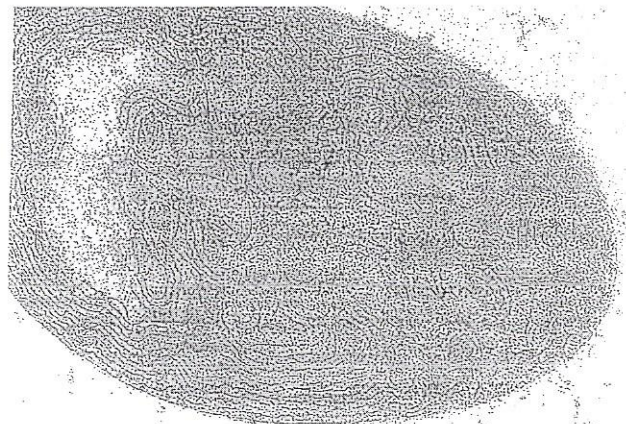
nismos cuyos lazos evolutivos entre unos y otros se manifiestan por similitudes de la secuencia nucleótida de sus ácidos nucleicos. Las especies más conocidas de arqueobacteria son las que viven en ambientes extremos e inhóspitos; a menudo se conocen como "extremófilas". Entre los organismos de arqueobacteria figuran los metanógenos (procariotas capaces de convertir los gases  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  en gas metano [ $\text{CH}_4$ ]); los halófilos (procariotas que viven en ambientes en extremo salados, como el Mar Muerto o algunas cuencas oceánicas profundas con salinidad equivalente a la del  $\text{MgCl}_2$  5M); acidófilos (procariotas que tienen preferencias por ambientes ácidos, que viven a un pH tan bajo como cero, como los que se encuentran en los líquidos que drenan de las minas abandonadas); y termófilos (procariotas que viven a muy altas temperaturas). En este último grupo se incluye a las hipertermófilas, que viven en chimeneas hidrotermales del fondo marino. Al poseedor del registro más elevado en este grupo se le denomina "cepa 121", porque es capaz de vivir y dividirse en agua supercaliente a una temperatura de  $121^\circ\text{C}$ , que resulta ser la temperatura utilizada para esterilizar equipo quirúrgico en autoclave.

Todos los otros procariotas se clasifican en el dominio de Bacteria. Este dominio incluye a las células vivas más pequeñas, el micoplasma ( $0.2 \mu\text{m}$  de diámetro), que también son los únicos procariotas conocidos sin una pared celular y que contienen un genoma con apenas 500 genes. Las bacterias están presentes en todos los ambientes conocidos sobre la Tierra, desde los hielos polares antárticos hasta los desiertos más secos del África y los confines internos de las plantas y animales. Asimismo hay que mencionar a las bacterias que viven en sustratos rocosos situados a varios kilómetros de profundidad. Se piensa que algunas de estas comunidades bacterianas se aislaron de la vida en la superficie hace más de 100 millones de años. Los procariotas más complejos son las cianobacterias. Estas poseen membranas citoplasmáticas, que sirven como sitios para la fotosíntesis (fig. 1-15a). Las membranas citoplasmáticas de las cianobacterias son muy parecidas a las membranas fotosintéticas presentes dentro de los cloroplastos de las células vegetales. Como en las plantas, organismos eucariotas, la fotosíntesis en cianobacterias se lleva a cabo al romper las moléculas de agua para liberar oxígeno molecular.

Muchas cianobacterias no sólo son capaces de realizar la fotosíntesis, sino también la fijación de nitrógeno, esto es, la conversión de nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) gaseoso en formas reducidas de nitrógeno (como amoníaco,  $\text{NH}_3$ ) que pueden utilizar las células en la síntesis de compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, incluidos aminoácidos y nucleótidos. Estas especies celulares capaces de efectuar la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno pueden sobrevivir con los recursos esenciales (luz,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ). Por lo tanto, no es de sorprender que las cianobacterias sean los primeros organismos que colonizan las rocas sin vida formadas por una erupción volcánica. Otro hábitat poco común ocupado por las cianobacterias se muestra en la figura 1-15b.

**Diversidad procariota** La mayoría de los microbiólogos conoce sólo aquellos microorganismos que son capaces de crecer en un medio de cultivo. Cuando un paciente, con alguna infección de las vías respiratorias o urinarias, acude con su médico, uno de los primeros pasos es la solicitud del cultivo del agente patógeno. Una vez que se ha cultivado, el microorganismo puede identificarse y es posible establecer el tratamiento adecuado. El cultivo





(a)



(b)

FIGURA 1-15 Cianobacterias. (a) Micrografía electrónica de una cianobacteria que ilustra las membranas citoplásmicas en las que se realiza la fotosíntesis. Estas membranas concéntricas son muy parecidas a las membranas tilacoides presentes dentro de los cloroplastos de las células vegetales, una característica que apoya la hipótesis de que los

cloroplastos evolucionaron a partir de las cianobacterias simbióticas. (b) A las cianobacterias que viven dentro del pelo de los osos polares se atribuye el color verdoso extraño de su pelaje. (A: CORTESÍA DE NORMA J. LANG; S: CORTESÍA DE ZOOLOGICAL SOCIETY OF SAN DIEGO.)

de la mayor parte de procariotas causantes de enfermedades fue relativamente sencillo, pero esto mismo no fue posible para aquellos que viven de manera libre en la naturaleza. El problema es agravado por el hecho de que los procariotas son apenas visibles en un microscopio óptico y con frecuencia su morfología no se puede precisar. A la fecha, se han identificado casi 6.000 especies de células procariotas por medio de técnicas tradicionales, lo que constituye menos de 0.1% de los millones de especies procariotas que se cree que existen en la Tierra. Nuestra apreciación de la diversidad de las comunidades procariotas se incrementó en forma espectacular en años recientes con el uso de técnicas moleculares que no requieren aislamiento de un microorganismo en particular.

Supóngase que el objeto de estudio es la diversidad de procariotas que viven en las capas superficiales del océano Pacífico de la costa de California. En lugar de cultivar tales organismos, lo cual podría ser inútil, un investigador puede concentrar las células de una muestra de agua de océano, extraer el DNA y analizar ciertas secuencias de DNA presentes en la preparación. Todos los organismos comparten ciertos genes, por ejemplo, aquellos que codifican los RNA (ácidos ribonucleicos) presentes en los ribosomas o las enzimas de ciertas vías metabólicas. Aunque todos los organismos pueden compartir dichos genes, las secuencias de los nucleótidos que constituyen los genes varían de manera considerable de una especie a otra. Esto es la base de la evolución biológica.

Al utilizar técnicas que revelan las diversas secuencias de DNA de un gen en particular en un hábitat en especial, se sabe directamente la diversidad de especies que hay en dicho hábitat. Las técnicas recientes de secuenciación se han vuelto más rápidas y más rentables de forma que casi todos los genes presentes en los microbios de un hábitat en específico pueden someterse a estudios de secuenciación, creando un genoma colectivo o *metagenoma*. Este método puede proporcionar información con respecto a los tipos de proteínas que producen dichos microorganismos y con respecto a muchas de las actividades metabólicas en las cuales participan.

Se han utilizado las mismas estrategias moleculares para explorar la notable diversidad de los "pasajeros invisibles" que viven alrededor o en nuestro cuerpo, en los hábitat como tubo digestivo, boca, vagina y piel. Esta colección de microbios, que se conoce como *microbioma*, es tema de varios esfuerzos internacionales de investigación dirigidos a identificar y caracterizar estos microorganismos en personas de diferentes edades, regímenes alimentarios, geografía y estados de salud. Por ejemplo, se ha demostrado que los seres humanos obesos y delgados tienen poblaciones bacterianas notablemente diferentes en su tubo digestivo. Conforme un individuo obeso pierde peso, su perfil bacteriano se modifica para hacerse similar al de los individuos más delgados. Estudios realizados en ratones sugieren que algunas especies bacterianas que predominan en individuos obesos pueden liberar más calorías de los alimentos ingeridos que sus contrapartes en el tubo digestivo de individuos delgados, lo que contribuye aún más al incremento de peso.

Los biólogos han encontrado, con técnicas moleculares basadas en la secuenciación, que la mayor parte de los hábitat sobre la Tierra están saturados de vida procariota aún no caracterizada. Un estimado de la cantidad de procariotas en los principales ambientes terrestres se muestra en el cuadro 1-2. Ahora se piensa

CUADRO 1-2 Cantidad de biomasa de procariotas en el mundo

Ambiente	Número de células procariotas $\times 10^{28}$	Pg de C en procariotas*
Hábitat acuático	12	2.2
Superficie oceánica marina	355	303
Suelo terrestre	26	26
Capa profunda de la superficie terrestre	25-250	22-215
Total	415-640	353-546

\*1 Pg (Petagramo) =  $10^{15}$  g.

Fuente: W. B. Whitman et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.* 95:6581, 1998.



...mas de 70% de estos organismos vive bajo los sedimentos de la profundidad de los océanos y en los estratos superficiales del suelo. Hasta hace una década se suponía que estos sedimentos profundos sólo estaban poblados de manera escasa por organismos vivos. El cuadro 1-2 también muestra un estimado de la cantidad de carbono que incorpora el mundo de las células procariotas. Para traducir este número a términos más familiares, éste es comparable a la cantidad total de carbono presente en toda la vida del mundo vegetal.

### Tipos de células eucariotas: especialización celular

En muchos aspectos, las células eucariotas más complejas no se encuentran dentro de las plantas o animales, sino en los protistas, organismos de una sola célula (*unicelulares*), como los que se muestran en la figura 1-16. Todos los mecanismos necesarios para las actividades complejas en las cuales intervienen estos organismos (sensores ambientales, captación de alimento, eliminación del exceso de líquidos, evasión de depredadores) están confinados dentro de una sola célula.

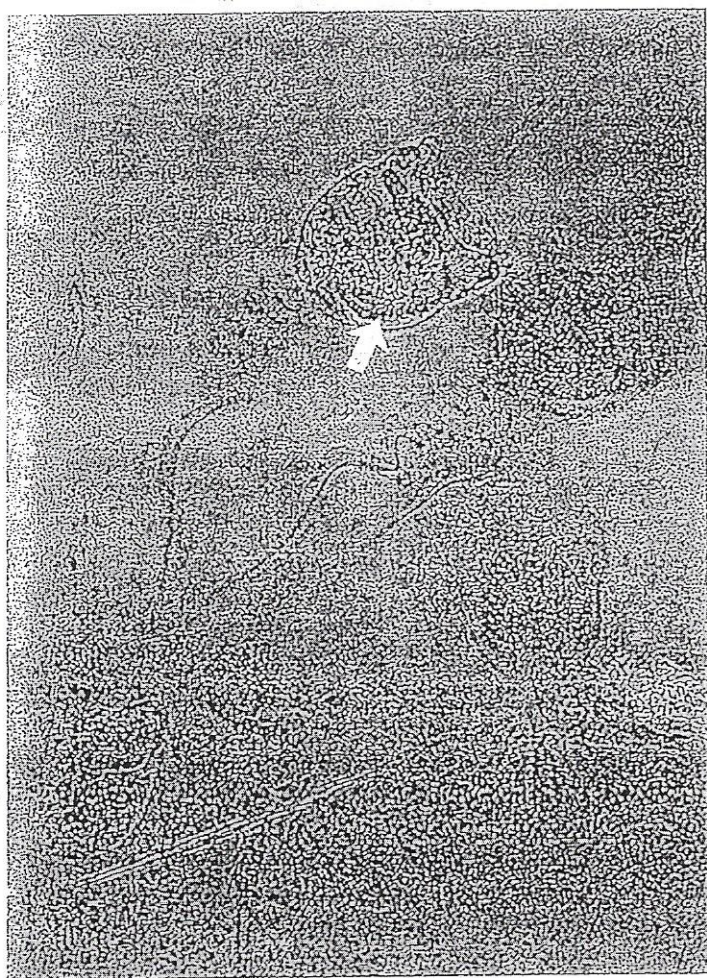


FIGURA 1-16 Vorticella, un protista ciliado complejo. Aquí se pueden observar varios de estos organismos unicelulares; la mayoría tiene contraída su "cabeza" por el acortamiento de la banda contráctil en su tallo teñida de azul. Cada célula posee un gran núcleo llamado macronúcleo (flecha), que contiene muchas copias de los genes. (CAROLINA BIOLOGICAL SUPPLY Co./PHOTOTAKE.)

Los organismos unicelulares complejos representan una vía evolutiva. Un camino alternativo ha llevado a la evolución de los organismos multicelulares en la cual diferentes tipos celulares especializados efectúan distintas actividades. Las células especializadas se forman por un proceso conocido como diferenciación. Por ejemplo, un óvulo humano fecundado experimenta un desarrollo embrionario que lleva a la formación de alrededor de 250 tipos distintos de células diferenciadas. Algunas de ellas formarán parte de una glándula digestiva específica, otras se convierten en componentes de un gran músculo esquelético, otras más constituyen un hueso, etc. (fig. 1-17). La ruta de diferenciación seguida por cada célula embrionaria depende de manera fundamental de las señales que ésta recibe del ambiente circundante; dichas señales dependen a su vez de la posición de dicha célula dentro del embrión. Como se revisa en la sección Perspectiva humana en este capítulo, los investigadores han aprendido a controlar el proceso de diferenciación en cajas de cultivo y aplicar este conocimiento al tratamiento de las enfermedades humanas complejas.

Como resultado de la diferenciación, distintos tipos celulares adquieren una apariencia característica y contienen materiales únicos. Las células musculoesqueléticas poseen una estructura de filamentos muy bien alineados, compuestos de proteínas contráctiles únicas; las células de cartilago están rodeadas por una matriz típica que contiene polisacáridos y por la proteína colágena, que en conjunto suministran el apoyo mecánico; los eritrocitos son estructuras en forma de disco y llevan la proteína hemoglobina, que transporta oxígeno, y así sucesivamente. No obstante, a pesar de sus múltiples diferencias, las células de una planta o animal están compuestas de organelos semejantes. Por ejemplo, las mitocondrias se localizan en todos los tipos celulares. Sin embargo, en un tipo celular pueden tener forma redonda y en otro un aspecto muy alargado. En cada caso, el número, apariencia y localización de los diferentes organelos pueden correlacionarse con la actividad de cada tipo celular. Se puede establecer una analogía con las diferentes secciones orquestales: todas ejecutan las mismas notas, pero varían por el arreglo de cada una y su carácter único y belleza.

**Organismos modelo** Los organismos vivos son muy diversos y los resultados obtenidos de un análisis experimental pueden depender del organismo en particular bajo estudio. Como resultado, los biólogos celulares y moleculares enfocan sus actividades de investigación en un pequeño número de "organismos representativos" u organismos modelo. Se espera que un cuerpo de conocimiento extenso basado en tales estudios constituya un marco de referencia que permita comprender los procesos básicos que son compartidos por muchos organismos, en especial el ser humano. Esto no quiere decir que muchos otros organismos no se utilicen ampliamente en el estudio de la biología celular y molecular. No obstante, seis organismos modelo, un procariota y cinco eucariotas, han captado mucho la atención: una bacteria, *E. coli*; una levadura, *Saccharomyces cerevisiae*; una planta con flor, *Arabidopsis thaliana*; un nematodo, *Caenorhabditis elegans*; una mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, y un ratón, *Mus musculus*. Cada uno de ellos posee ventajas específicas que los torna en particular útiles como objeto de investigación y para responder ciertas preguntas. Asimismo, cada uno de estos organismos se representa en la figura 1-18 y en el pie de esta figura



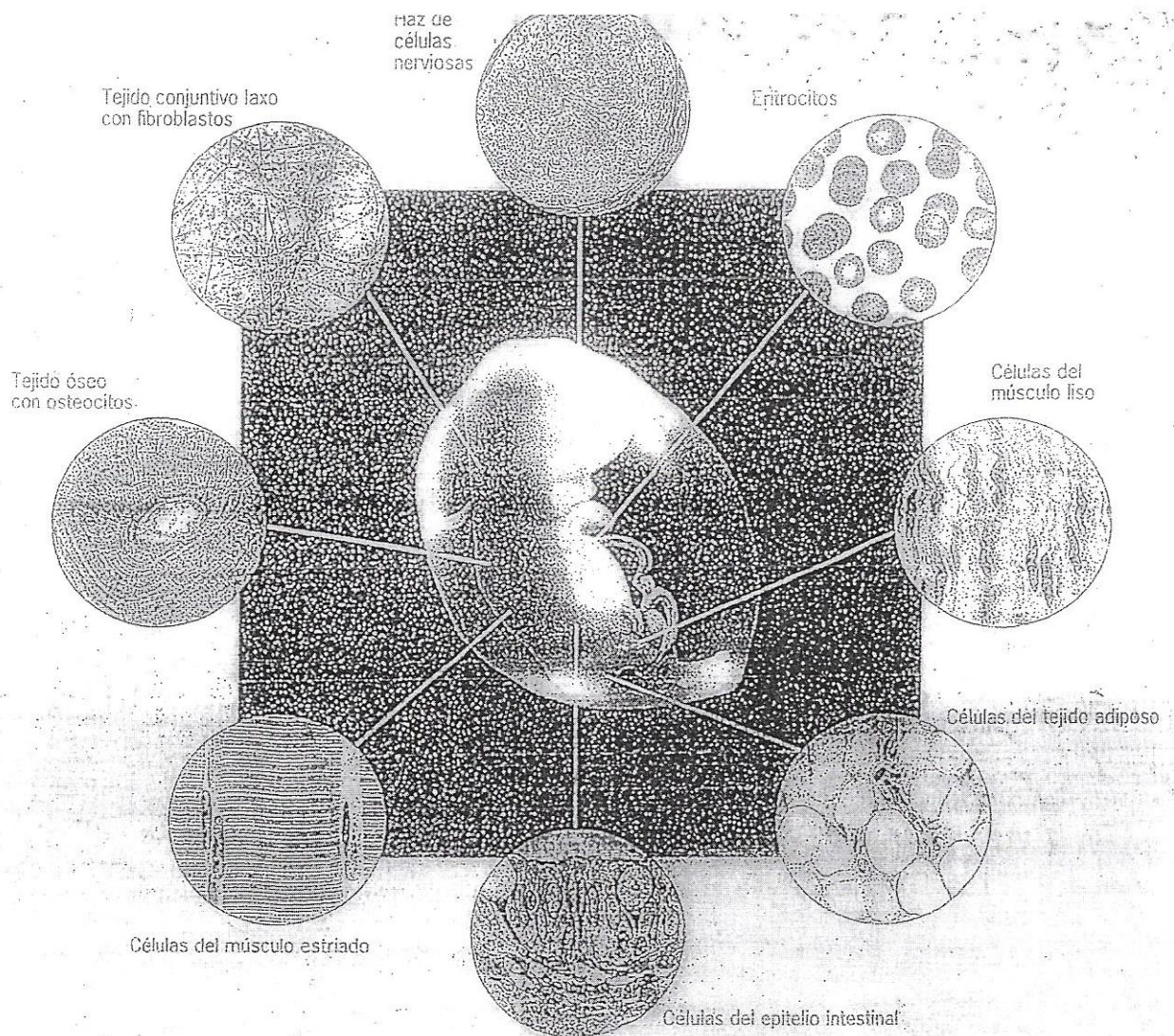


FIGURA 1-17. Vías de diferenciación celular. Algunos de los tipos de células diferenciadas presentes en los fetos humanos. (MICROGRAFÍAS, CORTESÍA DE MICHAEL ROSS, UNIVERSITY OF FLORIDA.)

se describen algunas de sus ventajas como sistemas de investigación. Este texto se enfoca en los resultados obtenidos a partir de los estudios realizados en sistemas de mamíferos, sobre todo en el ratón y el cultivo de células de mamífero, en virtud de que estos hallazgos son más aplicables a los seres humanos. Aun así, habrá ocasión de describir las investigaciones efectuadas en células de otras especies. Es sorprendente descubrir cuán semejante es el hombre a nivel celular y molecular respecto de estos organismos mucho más pequeños y simples.

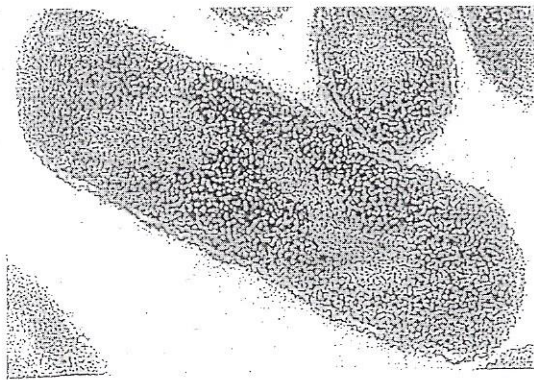
### Tamaño de las células y sus componentes

La figura 1-19 muestra las dimensiones relativas de diferentes estructuras de interés en biología celular. De forma habitual se utilizan dos unidades de medición lineal para describir el interior de una célula: el micrómetro ( $\mu\text{m}$ ) y el nanómetro (nm). Un micrómetro es igual a  $10^{-6}$  metros y un nm a  $10^{-9}$  metros. El angstrom ( $\text{\AA}$ ), que es igual a una décima parte de un nanómetro,

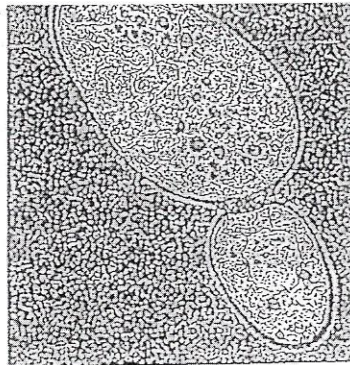
la utilizan muchas veces los biólogos moleculares para cuantificar dimensiones atómicas. De manera simple, un angstrom equivale al diámetro de un átomo de hidrógeno. Las moléculas biológicas grandes (p. ej., macromoléculas) se describen en angstroms o nanómetros. La mioglobina, una proteína globular típica cuyo tamaño es de  $4.5 \text{ nm} \times 3.5 \text{ nm} \times 2.5 \text{ nm}$ , y las proteínas muy largas (como la colágena o la miosina) son mayores de 100 nm de longitud, y el DNA es de 2.0 nm de ancho. Los complejos macromoleculares, como los ribosomas, microtúbulos y microfilamentos, oscilan entre 5 y 25 nm de diámetro. A pesar de sus pequeñas dimensiones, estos complejos macromoleculares son de forma destacada las complejas "nanomáquinas" capaces de realizar diversas actividades mecánicas, químicas y eléctricas.

Las células y sus organelos se cuantifican con mayor facilidad en micrómetros. Por ejemplo; el núcleo posee un diámetro aproximado de 5 a 10  $\mu\text{m}$  y la mitocondria, de 2  $\mu\text{m}$  de largo. Por lo general, las células procariotas se encuentran en los límites

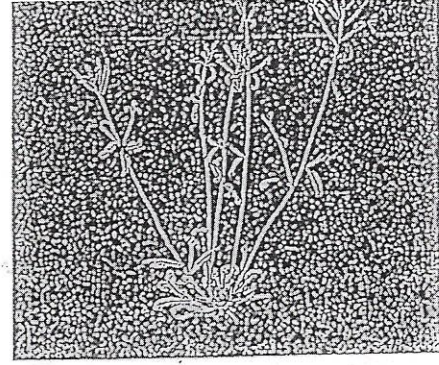




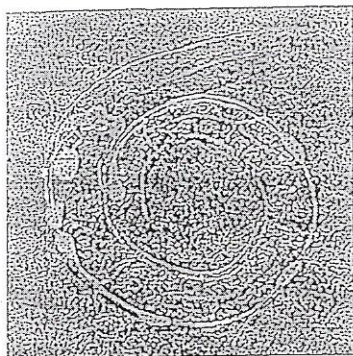
(a)



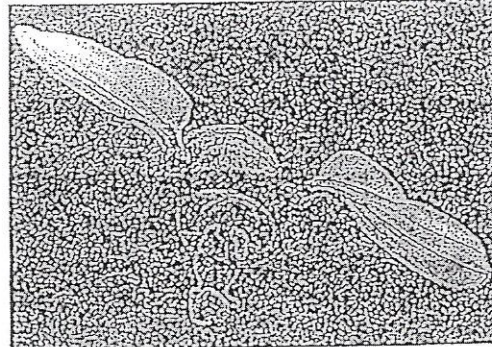
(b)



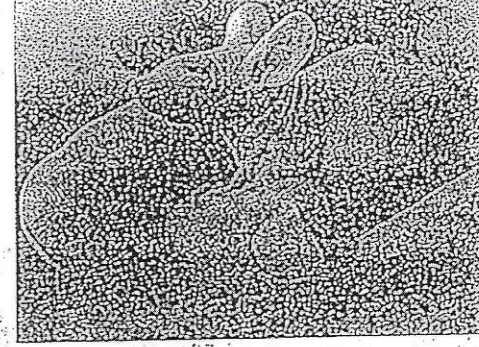
(c)



(d)



(e)



(f)

FIGURA 1-18 Seis organismos modelo. (a) *Escherichia coli* es una bacteria de forma alargada que vive en el tubo digestivo de seres humanos y otros mamíferos. Gran parte de lo que se revisa acerca de la biología molecular básica de la célula, incluidos los mecanismos de replicación, transcripción y traducción, se trabajó de manera original en este organismo procariota. La organización relativamente simple de una célula procariota se ilustra en esta micrografía electrónica (compárese con la parte b de una célula eucariota). (b) *Saccharomyces cerevisiae*, mejor conocida como levadura de panadería o cervecera. Este es el eucariota menos complejo y más estudiado; contiene un número sorprendente de proteínas que son homólogas de las proteínas de las células humanas. Tales proteínas ejercen una función conservada en los dos organismos. La especie tiene un genoma pequeño que codifica cerca de 6.200 proteínas; puede crecer en estado haploide (una copia de cada gen por célula en lugar de dos, como en la mayor parte de las células eucariotas); y puede crecer en condiciones aeróbicas (con  $O_2$ ) y anaeróbicas (sin  $O_2$ ). Es ideal para la identificación de genes a través del uso de mutantes. (c) *Arabidopsis thaliana*, un miembro de un género de plantas de mostaza, tiene un genoma muy pequeño (120 millones de pares de bases) para una planta con flores, un tiempo de generación rápido, una producción numerosa de semillas y crecimiento de unos cuantos centímetros de altura. (d) *Caenorhabditis elegans*, un nematodo microscópico, se integra con un número definido de células (alrededor de 1000),

cada una de las cuales se desarrolla de acuerdo con un patrón preciso de divisiones celulares. El animal tiene una pared corporal transparente y un tiempo de generación corto y manejable para los análisis genéticos. Esta micrografía muestra el sistema nervioso de la larva, que se marcó con la proteína verde fluorescente (GFP). El Premio Nobel de 2002 se concedió a los investigadores pioneros de este estudio. (e) *Drosophila melanogaster*, la mosca de la fruta, es un eucariota pequeño pero complejo que fue por casi 100 años el animal favorito para los estudios genéticos. El organismo también es adecuado para estudios de biología molecular del desarrollo y de las bases neurológicas del comportamiento. Ciertas células de larvas tienen cromosomas gigantes, cuyos genes individuales se pueden identificar para estudios de evolución y expresión genética. (f) *Mus musculus*, el ratón doméstico común, se aloja y mantiene de manera sencilla en el laboratorio. Se han desarrollado miles de cepas diferentes desde el punto de vista genético, muchas de las cuales se guardan como embriones congelados por la falta de espacio para albergar a animales adultos. El "ratón desnudo" que se muestra en la fotografía se desarrolló como animal atímico y es capaz de aceptar injertos de piel humana sin rechazo. (A y B: BIOPHOTO ASSOCIATES/PHOTO RESEARCHERS; C: JEAN CLAUDE REY/PHOTOTAKE; D: DE KARLA KNOBEL, KIM SCHUSKE, Y ERIK JORGENSEN, TRENDS GENETICS, VOL. 14, COVER #12, 1998; E: DENNIS KUNKEL/VISUALS UNLIMITED; F: TED SPIEGEL/CORBIS IMAGES.)

de 1 a 5  $\mu m$  de largo y las eucariotas de 10 a 30  $\mu m$ . Hay varias razones por las cuales la mayor parte de las células son pequeñas. Considérense las siguientes.

- La mayor parte de las células eucariotas posee un solo núcleo que contiene únicamente dos copias de la mayoría de los genes. Debido a que los genes sirven como moldes para la producción de RNA mensajeros portadores de información, una célula sólo puede producir un número limitado de estos RNA en un tiempo específico. El gran volumen citoplásmico de la célula hace posible sintetizar los mensajes que requiere esta célula.

- A medida que una célula incrementa su tamaño, decrece la relación área de superficie/volumen.<sup>3</sup> La capacidad de una célula para intercambiar sustancias con su medio ambiente es proporcional a su área de superficie. Si una célula creciera más allá de cierto tamaño, su superficie podría ser insuficiente para captar las sustancias (p. ej., oxígeno, nutrientes) necesarias para sustentar sus actividades metabólicas. Las células

<sup>3</sup>El lector puede constatar este enunciado calculando el área superficial y el volumen de un cubo cuyos lados miden 1 cm en comparación con un cubo con lados de 10 cm. La relación área superficial/volumen del cubo pequeño es más grande en grado notable que la del cubo grande.



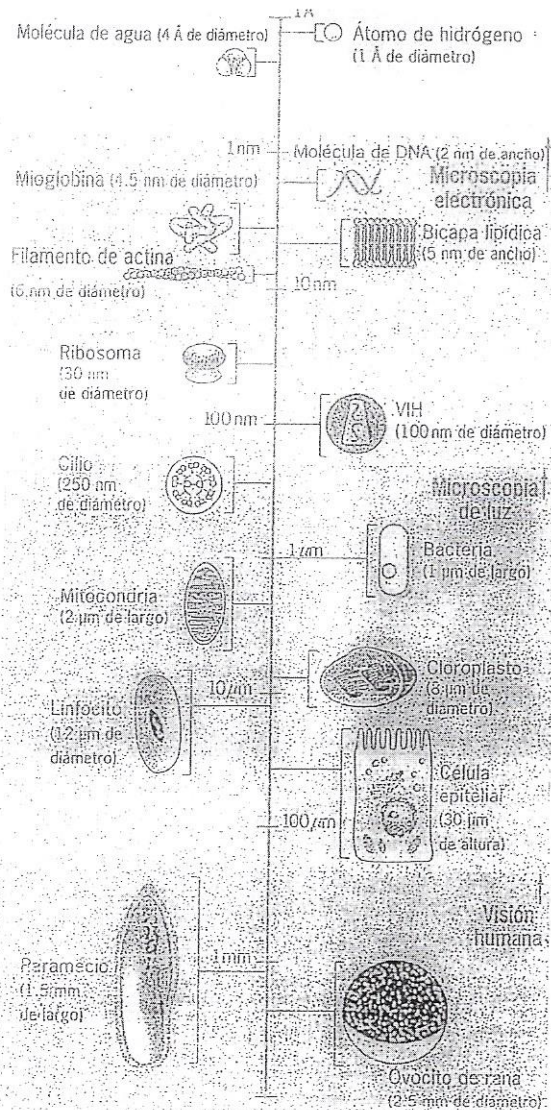


FIGURA 1-19 Tamaños relativos de las células y sus componentes. Las estructuras que se muestran son diferentes en tamaño por más de siete órdenes de magnitud.

especializadas en la absorción de solutos, como las del epitelio intestinal, poseen casi siempre microvellosidades por medio de las cuales se incrementa en gran medida el área superficial disponible para el intercambio (fig. 1-3): El interior de una gran célula vegetal lo ocupa la mayoría de las veces una gran vacuola llena de líquido, en lugar de un citoplasma activo a nivel metabólico (fig. 8-36b).

- Una célula depende en gran medida del movimiento aleatorio de las moléculas (*difusión*). Por ejemplo, el oxígeno debe difundirse desde la superficie de la célula a través del citoplasma hasta el interior de su mitocondria. El tiempo necesario para esta difusión es proporcional al cuadrado de la distancia que se recorre. Por ejemplo, el  $O_2$  necesita sólo 100 microsegundos para difundirse a una distancia de un micrómetro, pero un tiempo de  $10^6$  veces mayor para difundirse una distancia de un milímetro. Cuando una célula es grande y aumenta la distancia de la superficie al interior, el tiempo necesario para el movimiento por difusión de las sustancias hacia dentro y fuera de una célula activa en sentido metabólico puede ser muy grande e inoperante.

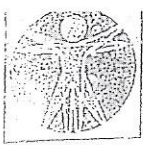
Un objetivo de un campo de investigación en biología, a menudo conocido como *biología sintética*, es crear células vivas en el laboratorio, esencialmente por "raspado". Una motivación de los investigadores es lograr la hazaña y, en el proceso, demostrar que la vida a nivel celular surge de manera espontánea cuando se reúnen en forma apropiada los elementos a partir de materiales sintetizados por medios químicos. En este punto en el tiempo, los biólogos están muy lejos de lograr la hazaña, y muchos miembros de la sociedad podrían argumentar que esto nunca ocurrirá. Un objetivo más modesto de la biología sintética es desarrollar formas novedosas de vida, iniciando con los organismos existentes, y que son de singular utilidad en medicina y en la industria o para la limpieza del medio ambiente. Por ejemplo, podría ser posible "construir" una especie de bacteria que convirtiera la celulosa, el principal constituyente de las paredes celulares vegetales, en un combustible biológico como los hidrocarburos que se encuentran en la gasolina. Si, como la mayoría de los biólogos argumentan, las propiedades y actividades de la descendencia de una célula provienen de la "huella genética celular", entonces sería posible crear un nuevo tipo de célula al introducir nueva información genética en el citoplasma de una célula existente. La factibilidad de cumplir este tipo de hazaña se demostró en el año 2007 cuando el genoma de una bacteria se sustituyó con el de una especie estrechamente relacionada, transformando de manera eficaz una especie en otra.

En otro logro importante en el campo de la biología sintética, en el año 2008 se reportó la síntesis química del genoma completo de la bacteria *Mycoplasma genitalium*. El genoma de esta bacteria, el más pequeño de cualquier microorganismo que puede cultivarse en el laboratorio, consiste de una molécula circular de DNA de casi 580 000 pares de bases de longitud, que da origen a casi 500 genes. Para lograr esta hazaña, los investigadores iniciaron con la síntesis química de segmentos pequeños de DNA de casi 100 bases de longitud, que es lo máximo permitido con las técnicas disponibles. La secuencia de las bases de cada uno de estos fragmentos pequeños se determinó con precisión por los investigadores para equiparar con la secuencia natural, con unas cuantas alteraciones intencionales. Los segmentos sintéticos pequeños fueron ensamblados en fragmentos más grandes de DNA, que finalmente se unieron para crear un genoma bacteriano completo. Al momento de escribir esto, el genoma sintético no había sido introducido en una célula bacteriana viva, pero esto no es una barrera importante dado que los experimentos para sustitución de genoma se describieron antes en este texto. Una vez que esto se ha logrado, el equipo de investigadores producirá células que contienen el "esqueleto genético" al cual puedan añadirse nuevos genes obtenidos de otros organismos. Por último, esta línea de investigación llevará a la posibilidad de crear nuevas formas de vida que posean propiedades novedosas.

## REVISIÓN

1. Compare una célula procariota y una eucariota con respecto a sus diferencias en estructura, función y metabolismo.
2. ¿Cuál es la importancia de la diferenciación celular?
3. ¿Por qué las células casi siempre son microscópicas?
4. Si una mitocondria midiera 2 µm de largo, ¿a cuántos angstroms, nanómetros y milímetros equivale?





Para una persona con corazón o hígado con insuficiencia, un trasplante de órgano es la mejor esperanza para su supervivencia y el reingreso a la vida productiva. El trasplante de órganos es uno de los logros más importantes de la medicina moderna, aunque su aplicación está muy limitada por la disponibilidad de donadores de órganos y el alto riesgo de rechazo inmunitario. Es importante imaginar las posibilidades del cultivo celular y de órganos en el laboratorio y la utilización de éstos para reemplazar las partes dañadas o sin función del organismo. Estudios recientes han dado a los investigadores la esperanza de que uno de estos días el tratamiento será una realidad común. Para entender mejor el concepto del tratamiento de reemplazo celular puede considerarse un procedimiento llevado a cabo en la actualidad conocido como *trasplante de médula ósea*, en el cual las células se obtienen del interior de los huesos pélvicos de un individuo donador y se transfunden al cuerpo de un receptor.

El trasplante de médula ósea se practica sobre todo para tratar linfomas y leucemias, los cuales son tipos de cáncer que afectan la naturaleza y el número de las células blancas sanguíneas. Para efectuar este procedimiento, el paciente se expone a un alto nivel de radiación o se trata con sustancias tóxicas, o ambas cosas; estos agentes destruyen a las células cancerosas pero también a las células relacionadas con la formación de células sanguíneas de los glóbulos rojos y blancos (eritrocitos y leucocitos). El tratamiento tiene efecto porque las células que generan la sangre son de manera particular muy sensibles a la radiación y a las sustancias tóxicas. Una vez que las células que forman la sangre de un individuo se destruyen, se reemplazan con células de la médula ósea trasplantadas que proceden de un donador sano. La médula ósea puede regenerar el tejido sanguíneo del receptor del trasplante porque contiene un pequeño porcentaje de células que pueden proliferar y restituir el tejido de la médula ósea que produce la sangre en el paciente.<sup>1</sup> Las células que producen sangre en la médula ósea se denominan células progenitoras hematopoyéticas (o HSC), que se encargan del reemplazo de millones de leucocitos y eritrocitos que envejecen y mueren cada día en el organismo (fig. 17-6). De manera asombrosa, una sola HSC es capaz de reconstruir el sistema hematopoyético completo (que forma sangre) de un ratón radiado. Cada vez más padres piden que se guarde la sangre del cordón umbilical del recién nacido como una forma de "póliza de seguro de células progenitoras" contra la posibilidad de que su hijo llegue a sufrir una enfermedad susceptible de ser tratada con la administración de HSC.

Las células progenitoras se definen como células no diferenciadas que 1) son capaces de renovarse a sí mismas, es decir, que pueden producir más células a partir de sí mismas y 2) son multipotenciales, es decir, son capaces de diferenciarse en dos o más tipos de células maduras. Las HSC de la médula ósea son tan sólo un tipo de células progenitoras. La mayoría si no todos los órganos de un ser humano adulto contienen células progenitoras capaces de reponer las células específicas del tejido en que se encuentran. Incluso el cerebro del adulto, que no es reconocido por su capacidad de regeneración, contiene células progenitoras que pueden generar nuevas neuronas y células gliales (las células de sostén del cerebro). En la figura 1a se muestra una célula madre individual hallada en tejido musculoesquelético adulto; se piensa que estas "células satélite", como se les llama, se dividen y diferencian según sea necesario para la reparación de tejido muscular lesionado. En la figura 1b se muestra un cultivo de células adiposas (grasas) que se han diferenciado *in vitro* a partir de células progenitoras adultas que se encuentran presentes en el tejido adiposo.

<sup>1</sup> El trasplante de médula ósea puede compararse con una simple transfusión sanguínea en la que el receptor obtiene células sanguíneas diferenciadas (en especial glóbulos rojos y plaquetas) presentes en la circulación.

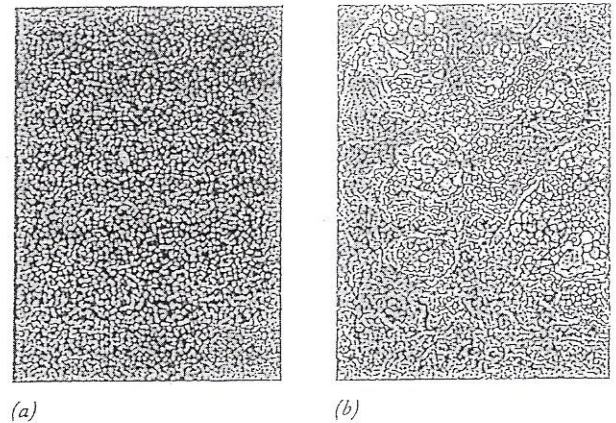
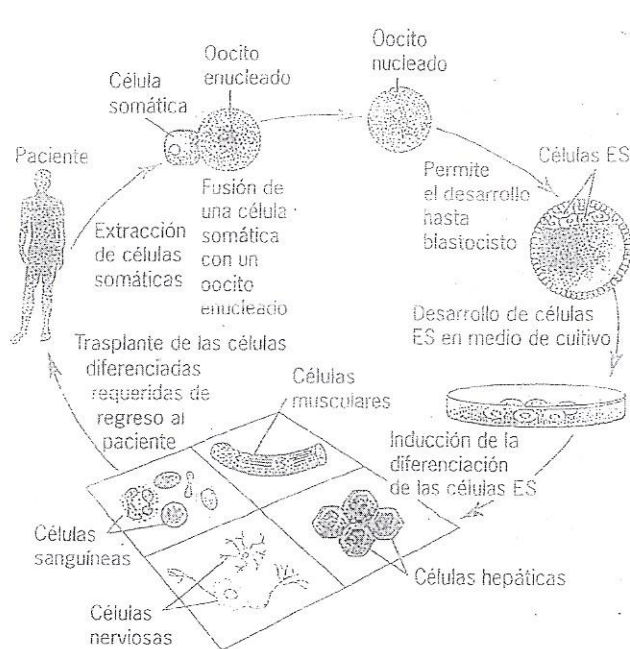


FIGURA 1 Célula progenitora muscular de un adulto. (a) Parte de una fibra muscular, con sus múltiples núcleos teñidos de azul. Una célula madre individual (amarillo) se observa alojada entre la superficie externa de la fibra muscular y una capa extracelular (o membrana basal), teñida de rojo. La célula progenitora no diferenciada presenta este color amarillo porque expresa una proteína que no se encuentra en la fibra muscular diferenciada. (b) Célula progenitora adulta sometida a diferenciación a célula adiposa en cultivo. Las células progenitoras capaces de este proceso están presentes en tejido adiposo adulto y también en la médula ósea. (A: TOMADA DE CHARLOTTE A. COLLINS ET AL., CELL 122:291, 2005; CON AUTORIZACIÓN DE CELL PRESS. B: CORTESÍA DE THERMO FISHER SCIENTIFIC, DE NATURE 451:855, 2008).

Una serie interesante de estudios que se realizaron en fecha reciente es en una cepa de labradores retriever que sufrieron una enfermedad hereditaria por un trastorno musculoesquelético muy similar a la distrofia muscular de los seres humanos. Los investigadores aislaron células progenitoras de los músculos de estos perros, corrigieron el trastorno genético en células aisladas y ampliaron el número de células con modificación genética al hacerlas crecer en medios de cultivo. Cuando estas células progenitoras se inyectaron de nuevo a los animales enfermos, muchos de ellos recuperaron músculo estriado cuando regresaron a sus sitios habituales de residencia. De vuelta en el tejido muscular, las células corregidas se dividieron y diferenciaron en nuevas células musculares y, al hacer esto, contribuyeron a mejorar en forma notable la movilidad y la marcha de los animales enfermos. Existe un optimismo considerable de que tipos similares de métodos terapéuticos pudieran emplearse en seres humanos. Por ejemplo, el corazón de seres humanos contiene células progenitoras que son capaces de diferenciarse en células musculares cardíacas (miocardiocitos) y en vasos sanguíneos cardíacos. Estas células progenitoras tienen el potencial de regenerar tejido cardíaco sano en pacientes que han experimentado ataques cardíacos graves o que sufren de insuficiencia cardíaca congestiva. Las células progenitoras adultas son un sistema ideal para tratamientos de sustitución celular porque pueden aislarse en forma directa del paciente, hacerse crecer en medios de cultivo y reintroducirse de nuevo al mismo paciente.

Aunque las células progenitoras adultas finalmente demostraron ser un recurso invaluable en el tratamiento de sustitución celular, estudios clínicos llevados a cabo hasta la fecha han sido desalentadores. En los últimos decenios se ha generado gran excitación con respecto a los estudios de células progenitoras embrionarias (ES, *embryonic stem*), que son un tipo de células progenitoras aisladas de embriones muy jóvenes de mamíferos (fig. 2). Estas son células en embriones tempranos que





**FIGURA 2** Procedimiento para obtener células diferenciadas para el tratamiento de reemplazo celular. Se toma un pequeño fragmento de tejido del paciente y el núcleo de una de las células se implanta en un oocito donador al que antes se le eliminó su núcleo. Se permite que el oocito (huevo) resultante se desarrolle como embrión temprano, se obtienen y cultivan las células progenitoras embrionarias derivadas. Se induce a una población de estas células progenitoras embrionarias a diferenciarse en las células requeridas, que luego se implantan en el paciente para restaurar la función del órgano afectado.

darán origen a las diversas estructuras del feto de mamífero. A diferencia de las células progenitoras adultas, las células ES son *pluripotenciales*, es decir, son capaces de diferenciarse en casi cualquier tipo de célula corporal. En la mayor parte de los casos, las células ES se han aislado de embriones proporcionados por clínicas de fecundación *in vitro*. A nivel mundial, se dispone para investigación experimental de docenas de líneas de células ES humanas genéticamente distintas, cada una derivada de un solo embrión.

El objetivo a largo plazo de los investigadores clínicos es aprender de qué manera las células ES se diferencian en cultivo en cada uno de los diversos tipos celulares que podrían utilizarse para el tratamiento de sustitución celular. Se ha logrado un avance considerable en este sentido, y varios estudios muestran que los trasplantes de células derivadas de ES diferenciadas pueden mejorar la salud de animales con órganos enfermos o dañados. Es probable que en los primeros ensayos en seres humanos se utilicen células, llamadas oligodendrocitos, que producen las vainas de mielina que recubren las células nerviosas (fig. 4-5). Por el método de ensayo y error se ha encontrado que las colonias puras de oligodendrocitos podrían diferenciarse a partir de células ES humanas que fueron cultivadas en un medio que contiene insulina, hormona tiroidea y una combinación de ciertos factores de crecimiento. Cuando se colocaban implantes de estos oligodendrocitos humanos en ratas con lesiones paralizantes de la médula espinal, los animales recuperaban un grado considerable de movilidad. En el año 2009 la FDA aprobó el primer estudio clínico en el cual se implantarían oligodendrocitos derivados de ES en pacientes que habían sufrido daño reciente en la médula espinal. También se planificaron estudios clínicos para el tratamiento de la diabetes tipo 1 y degeneración de la mácula del ojo. El riesgo primario con este tipo de procedimiento es la presencia no detectada de células ES no diferenciadas entre la población de células diferenciadas. Las células

ES no diferenciadas son capaces de formar un tipo de tumor llamado teratoma, que podría contener una masa peculiar de diversos tejidos diferenciados, incluidos cabellos y dientes. La formación de un teratoma dentro del sistema nervioso central podría tener consecuencias graves. Además, el cultivo de células ES al momento presente incluye el uso de materiales biológicos no humanos, lo que también impone riesgos potenciales de causar enfermedad.

Aunque las células progenitoras del adulto son incapaces de experimentar la diferenciación ilimitada que es característica de las células ES, tienen una ventaja sobre éstas en el sentido de que pueden aislarse del individuo que se trata y por tanto no están expuestas al rechazo inmunario cuando se usan en una reposición celular ulterior. Sin embargo, quizá sea posible "personalizar" células ES de modo que posean la misma constitución genética que el individuo al que se trata, y de este modo no queden sujetas al ataque del sistema inmunario del receptor. Esto probablemente se logre en forma indirecta mediante un procedimiento conocido como *transferencia nuclear de células somáticas* (SCNT, *somatic cell nuclear transfer*), que se muestra en la figura 2 y que inicia con un huevo no fertilizado, una célula que se obtiene de los ovarios de una mujer donadora no relacionada. En este método, el núcleo del óvulo no fecundado sería sustituido por el núcleo de una célula del paciente por tratar, lo cual daría al óvulo la misma composición cromosómica del paciente. Entonces se permitiría al óvulo desarrollarse hasta una etapa embrionaria temprana, y las células ES se extraerían, cultivarían e inducirían a diferenciarse en el tipo de células necesarias para el paciente. Debido a que este procedimiento implica la formación de un embrión humano que sólo se usa como fuente de células ES, existen importantes cuestiones éticas que deben resolverse antes de que pueda practicarse de manera sistemática.

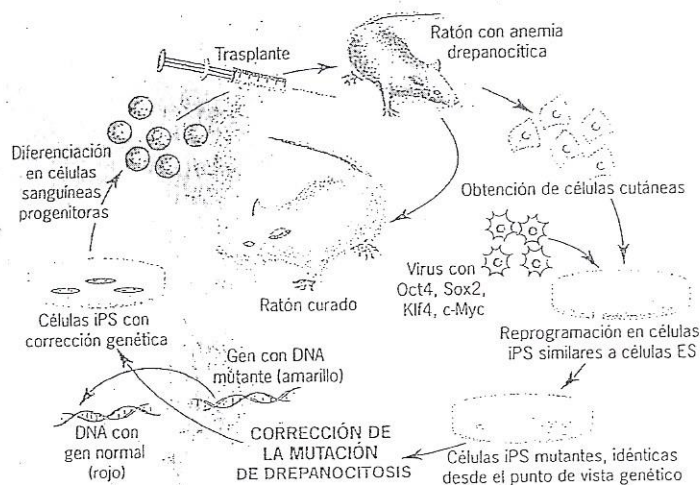
Además, el proceso de SCNT es muy costoso y demandante desde el punto de vista técnico, que es muy improbable que pudiera ser parte habitual del tratamiento médico. Es más probable que, si en algún momento se practica el tratamiento basado en células ES, esto dependería del uso de bancos celulares, que contarán con cientos o miles de células ES diferentes. Tales bancos podrían contener células con compatibilidad histica suficiente para que sean adecuadas para su uso en la mayor parte de los pacientes.

Durante mucho tiempo se pensó que el proceso de diferenciación celular en mamíferos era irreversible, una vez que una célula se transformaba en un fibroblasto, en un leucocito o en una célula cartilaginosa, nunca se modificaría para convertirse en otro tipo celular. Este concepto se tornó obsoleto en el año 2006, cuando Shinya Yamanaka et al. de la *Kyoto University* anunciaron un descubrimiento sorprendente; su laboratorio tuvo éxito en reprogramar una célula murina con diferenciación plena (en este caso un fibroblasto de tejido conjuntivo) en una célula progenitora pluripotencial. Lograron la hazaña de introducir en el fibroblasto murino los genes que codificaban cuatro proteínas fundamentales que son características de las células ES. Estos genes (*Oct4*, *Sox2*, *Klf4* y *Myc*) parecen desempeñar una función clave para mantener las células en un estado indiferenciado que le permitirá continuar con la autorrenovación. Los genes se introdujeron en fibroblastos cultivados utilizando virus portadores de genes, y aquellas células poco comunes que se reprogramaron fueron separadas de las otras en un cultivo por medio de técnicas especializadas. Los investigadores denominaron a este nuevo tipo de células *células pluripotenciales inducidas* (iPS cells) y demostraron que eran pluripotenciales al inyectarlas en un blastocisto murino y encontrar que participaban en la diferenciación de todas las células corporales, lo que incluye a ovocitos y espermatozoides. Más o menos en el año siguiente se logró la misma hazaña de reprogramación en varios laboratorios con células humanas, y se demostró que las células humanas iPS eran virtualmente indistinguibles de las células ES humanas auténticas con base en diversos criterios. Esto significa que los investigadores hoy en día cuentan con ellas como una fuente ilimitada de células pluripotenciales que pueden dirigirse para diferenciarse en



varios tipos de células corporales utilizando protocolos experimentales similares para aquellos que ya desarrollaron células ES. Además, las células iPS ya se han utilizado para corregir ciertos trastornos patológicos en animales de experimentación, lo que incluye anemia drepanocítica en un ratón, como se ilustra en la figura 3. Las células iPS también se han preparado de células adultas obtenidas de pacientes con trastornos genéticos, como enfermedad de Huntington y diabetes tipo 1. Los investigadores han seguido la diferenciación de estas células iPS en células enfermas en cultivo. Se espera que tales estudios revelen los mecanismos de formación de la enfermedad conforme ésta se desarrolla en medios de cultivo en la forma en que normalmente ocurre en el interior del cuerpo, donde no es susceptible de observación. Tales "células enfermas" también podrían servir como objetivo para la realización de pruebas que analicen los efectos de los fármacos recién desarrollados para detener la progresión de la enfermedad.

A diferencia de las células ES, la generación de células iPS no requiere el uso de un embrión. Esto elimina una de las reservas éticas que acompañaron el trabajo de las células ES y también facilitó en gran medida la producción de estas células en el laboratorio. De hecho, casi todo laboratorio que trabaja con células de mamífero cultivadas debe ser capaz de incursionar en este excitante campo, y ya muchos lo han hecho. Al



**FIGURA 3** Pasos para generar células pluripotenciales inducidas (iPS) para su uso en la corrección de drepanocitosis hereditaria en ratones. Se obtienen células cutáneas del animal enfermo, se reprograman en medio de cultivo al introducir los cuatro genes necesarios, que son administrados a las células por medio de virus y se permite que se desarrollen células iPS pluripotenciales, indiferenciadas. Más tarde, las células iPS se tratan para sustituir el gen defectuoso (de globina) con una copia normal, y las células iPS corregidas son encauzadas para su diferenciación en células sanguíneas progenitoras en cultivo. Más tarde estas células progenitoras se inyectan al ratón enfermo, donde proliferan y se diferencian en células sanguíneas normales, por lo que el ratón se cura del trastorno. (BASADA EN UNA ILUSTRACIÓN REALIZADA POR RUDOLF JAENISCH, CELL 132:5, 2008).

## 1.4. VIRUS

Hacia finales del siglo XIX, los trabajos de Louis Pasteur y otros habían convencido al mundo científico de que las enfermedades infecciosas de las plantas y los animales se debían a la presencia de bacterias, pero los estudios de la enfermedad del mosaico del tabaco en plantas de tabaco y la fiebre aftosa del ganado apuntaron a la existencia de otro tipo de agente infeccioso. Se encontró, por ejemplo, que la savia de una planta de tabaco enferma podía

igual que con las células ES, hay dificultades a superar antes de que las células iPS puedan utilizarse como una fuente de células para el tratamiento en seres humanos. Será de gran importancia desarrollar técnicas de reprogramación celular eficientes de forma que no se utilicen virus portadores de genes, porque dichas células conllevan el potencial de desarrollar cánceres. Estudios recientes sugieren que esto puede lograrse. Al igual que las células ES, las células iPS indiferenciadas pueden dar origen a teratomas, de forma que es esencial que sólo las células completamente diferenciadas se trasplanten a seres humanos. También al igual que las células ES, las células iPS en uso a la fecha tienen los mismos antígenos históxicos que las células donadoras que originalmente la proporcionaron, de forma que estimularía en una respuesta inmunitaria si se trasplantan a otros organismos receptores humanos. Sin embargo, a diferencia de las células ES, será mucho más fácil generar células iPS personalizadas, compatibles desde el punto de vista históxico, porque pueden obtenerse de una simple biopsia cutánea obtenida de cada paciente. Aún así, tomará tiempo, costos y experiencia técnica considerables para generar población de células iPS a partir de un donador específico. En consecuencia, si las células iPS se desarrollan en algún momento para uso terapéutico, probablemente provengan de bancos celulares grandes que podrían proporcionar células con compatibilidad históica estrecha para la mayor parte de los receptores potenciales. Podría ser posible eliminar todos los genes de las células iPS que normalmente evitan que sean trasplantadas a receptores al azar. Si esto se logra, podría ser posible desarrollar una línea de células iPS de "donador universal" que no sean detectadas por el sistema inmunitario del receptor. Las células de este tipo podrían utilizarse como la base para la sustitución celular en cualquier individuo.

En el año 2008, el campo de la reprogramación celular sufrió un giro inesperado con el anuncio de que un tipo de célula diferenciada se había convertido directamente en otro tipo de célula diferenciada, un caso de "transdiferenciación". En este reporte, las células acinares del páncreas, que producen las enzimas que participan en la digestión de los alimentos en el intestino, se transformaron en células pancreáticas beta que producen y secretan insulina. El proceso de reprogramación ocurrió en forma directa, en unos cuantos días, sin el paso a través de un estado celular intermedio y sucedió mientras las células permanecían en su sitio habitual en el páncreas de un hígado murino. Esta hazaña se logró mediante la inyección de virus que portaban tres genes conocidos como importantes en la diferenciación de células beta en el embrión. En este caso, los receptores de la inyección eran ratones diabéticos, y la transdiferenciación de un número significativo de células acinares a células beta permitió que los animales regularan su glucemia con dosis mucho menores de insulina. Cabe hacer notar que los adenovirus utilizados para aplicar los genes en este experimento no se tornaron como parte permanente de la célula receptora, sino que se eliminaron por ciertas preocupaciones con respecto al uso de virus como portadores de genes en seres humanos. Es demasiado pronto para especular sobre si este tipo de reprogramación directa tiene potencial terapéutico real, pero hace surgir la posibilidad de que las células enfermas que deban ser sustituidas puedan producirse en forma directa a partir de otros tipos celulares en el mismo órgano.

transmitir la enfermedad del mosaico a una planta sana, aunque la savia no mostró evidencias de bacterias cuando se examinó bajo un microscopio óptico. Para obtener más información en cuanto al tamaño y naturaleza del agente infeccioso, el biólogo ruso Dmitri Ivanovsky hizo pasar la savia de una planta enferma a través de filtros cuyos poros eran tan pequeños que retardaron el paso de las bacterias más pequeñas conocidas. El filtrado no dejó de ser infeccioso, lo que llevó a Ivanovsky a concluir que ciertas enfermedades eran secundarias a agentes patógenos más pequeños



que se conocían. Estos patógenos se conocieron como virus.

En 1935, Wendell Stanley, del *Rockefeller Institute*, notificó que el virus causante de la enfermedad del mosaico del tabaco pudo cristalizarse y que los cristales eran infecciosos. Los componentes que formaron los cristales tenían una estructura muy ordenada, bien definida y eran mucho menos complejos que las células más simples. Stanley concluyó de manera errónea que el virus del mosaico del tabaco (TMV) era una proteína. De hecho, el TMV es una partícula semejante a un bastón que consiste en una sola molécula de RNA cubierta por una capa helicoidal compuesta de subunidades proteicas (fig. 1-20).

Los virus provocan una docena de enfermedades humanas, entre ellas el sida, poliomielitis, influenza, exantemas, sarampión y algunos tipos de cáncer (véase sección 16.2). Los virus se presentan en una amplia variedad de formas, tamaños y estructuras, si bien comparten ciertas características comunes. Todos los virus son parásitos intracelulares obligados, esto es, no se pueden reproducir a menos que se encuentren dentro de una célula hospedadora. Según sea el virus específico, el hospedador puede ser una planta, animal o bacteria. Fuera de las células vivas, los virus existen como partículas, o viriones, que son una especie de paquete macromolecular. El virión contiene una cantidad pequeña de material genético que, en relación con el virus del que se trate, puede ser un DNA o RNA de cadena sencilla o doble. Llama la atención que algunos virus tienen tan sólo tres a cuatro genes diferentes, pero existen otros que pueden tener hasta varios cientos de ellos. El material genético del virión está rodeado por una cápsula proteínica, o *cápside*. Los viriones son agregados macromoleculares, partículas inanimadas que por sí mismas son incapaces de reproducirse, metabolizar o realizar cualquier otra de las actividades relacionadas con la vida. Por ello, los virus no se consideran organismos y no se les describe como seres vivos.

Las cápsides virales por lo general están constituidas por un número específico de subunidades. Existen muchas ventajas en la construcción mediante subunidades; una de las más obvias es la economía de información genética. Si una cubierta viral está conformada por muchas copias de una sola proteína, como es el caso del TMV, o de pocas proteínas, como sucede con las cubiertas de muchos otros virus, sólo se necesita uno o unos pocos genes que codifiquen las proteínas de esta estructura. Muchos virus tienen una cápside cuyas subunidades están organizadas en un poliedro, es decir, una estructura con caras planas. Una forma poliédrica en particular común en los virus es el *icosaedro* de 20 lados. Por ejemplo, los adenovirus que causan las enfermedades respiratorias en los mamíferos poseen una cápside icosaédrica (fig. 1-21a). En muchos virus de animales, incluido el *virus de la inmunodeficiencia humana* (VIH) causante del sida, la cápside proteica está rodeada por una envoltura fosfolipídica externa que proviene de la membrana plasmática modificada de la célula hospedadora, obtenida cuando el virus salió por gemación de la superficie celular (fig. 1-21b). Los virus bacterianos o bacteriófagos se encuentran entre los virus más complejos (fig. 1-21c). También son las entidades biológicas más abundantes en el planeta Tierra.

Los bacteriófagos T (que se utilizaron en experimentos clave que revelaron la estructura y propiedades del material genético) consisten en una cabeza poliédrica que contiene DNA, un tallo cilíndrico por medio del cual el DNA se inyecta dentro de la célula bacteriana, y un grupo de fibras en el extremo; en su

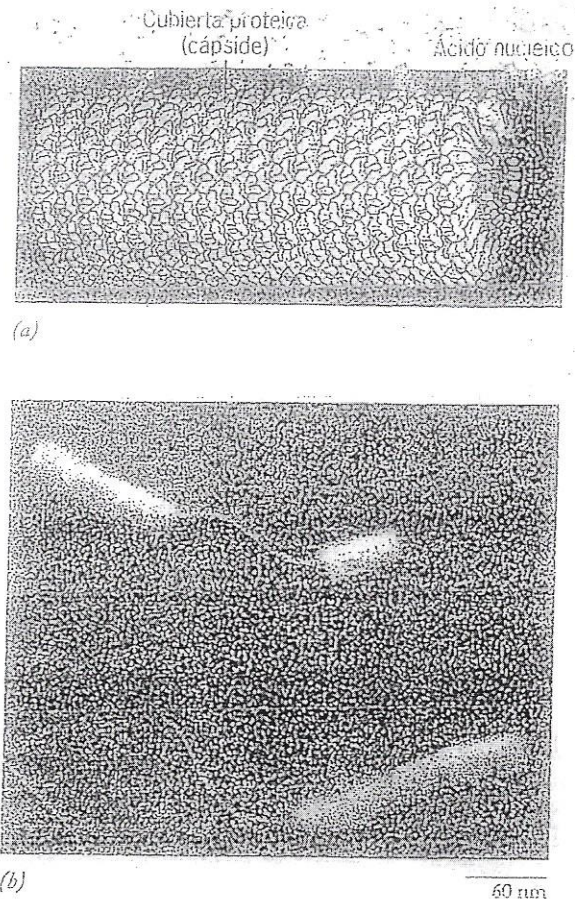


FIGURA 1-20 Virus del mosaico del tabaco (TMV). (a) Modelo de una porción de una partícula de TMV. Las subunidades proteicas son idénticas en toda la partícula, cuya forma es alargada y en su interior se encuentra una cadena sencilla de RNA en forma de hélice (rojo). (b) Micrografía electrónica de partículas de TMV captadas después del tratamiento con fenol para eliminar las subunidades proteicas de la parte media de la partícula, que se observa en la parte superior de la fotografía y la remoción de la proteína de los extremos, que se observa en la partícula inferior. Las partículas intactas son de unos 300 nm de longitud y 18 nm de diámetro. (A: CORTESÍA DE GERALD STUBBS, KEIICHI NAMBA Y DONALD CASPAR; B: CORTESÍA DE M. K. CORBETT.)

conjunto, la partícula viral ofrece el aspecto de un módulo de aterrizaje espacial.

Cada virus posee en su superficie una proteína que es capaz de unirse a un componente definido de la superficie de la célula hospedadora. Por ejemplo, la proteína que se proyecta de la superficie de la partícula del VIH (definida como gp120 en la figura 1-21b, recibe ese nombre por tratarse de una glucoproteína de 120 000 daltons<sup>4</sup>) interactúa con una proteína específica (llamada CD4) que se localiza en la superficie de algunos leucocitos sanguíneos, lo cual facilita la entrada de los virus a la célula hospedadora. La interacción de las proteínas virales y las del hospedador determina la especificidad del virus, esto es, los tipos de célula hospedadora en los que los virus pueden entrar e infectar. Algunos virus tienen un amplio *espectro de hospedadores* y son capaces de infectar células de diferentes órganos o especies hospedadoras. Por ejemplo, el virus que causa la rabia puede infectar

<sup>4</sup>Un dalton equivale a una unidad de masa atómica, la masa de un átomo de hidrógeno (<sup>1</sup>H).



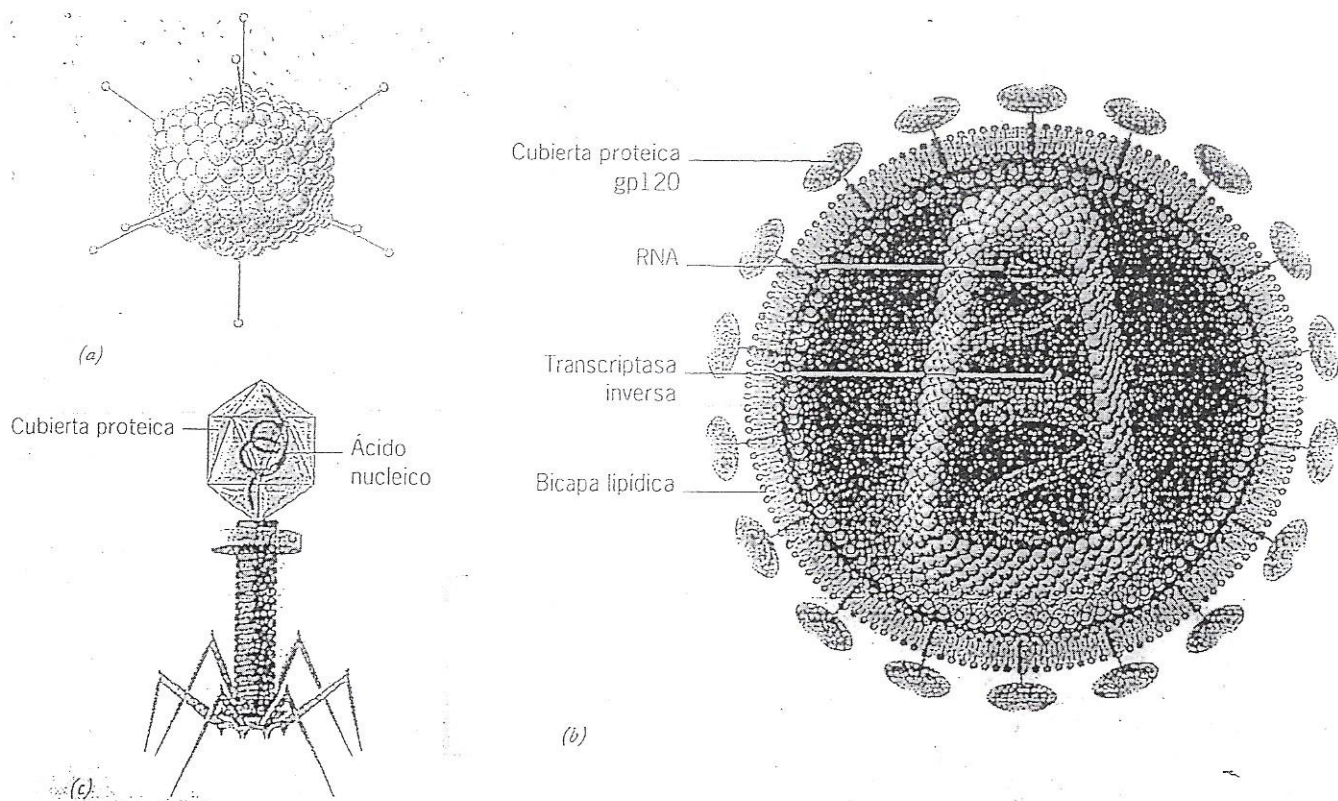


FIGURA 1-21 Diversidad viral. Estructuras de (a) un adenovirus; (b) un virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); y (c) un bacteriófago T tipo 4. (Nota: estos virus no se representan a la misma escala.)

muchos tipos de mamíferos hospedadores que incluyen perros, murciélagos y seres humanos. Sin embargo, la mayor parte de los virus tiene un espectro relativamente reducido de hospedadores. Esto es casi siempre cierto, por ejemplo, para los virus del resfriado común y la influenza humana, que sólo pueden infectar las células del epitelio respiratorio del hospedador humano.

Un cambio en la especificidad de célula hospedadora puede tener notables consecuencias. Este aspecto es ilustrado de manera espectacular por la pandemia de gripe de 1918, que causó la muerte de más de 30 millones de personas en todo el mundo. El virus fue en particular letal entre adultos jóvenes, que no suelen sucumbir a la gripe. De hecho, las 675 000 muertes por el virus en Estados Unidos redujeron de manera temporal la esperanza de vida en varios años. En uno de los logros más aclamados (y polémicos) de los últimos años, los investigadores pudieron determinar la secuencia genómica del virus causante de la pandemia y reconstituir éste en su estado plenamente virulento. Para ello aislaron los genes virales (que son parte de un genoma constituido por ocho moléculas separadas de RNA que codifican 11 proteínas diferentes) de los restos preservados de personas que murieron a causa de la infección 90 años antes. Las muestras mejor preservadas se obtuvieron de una mujer nativa americana que fue sepultada en el permafrost de Alaska. La secuencia del "virus 1918" sugirió que el patógeno había pasado de aves a personas. Aunque el virus había acumulado una cantidad considerable de mutaciones, que lo adaptaron para un hospedador mamífero, nunca había intercambiado material genético con un virus de la gripe humana, una posibilidad que se contempló hasta entonces.

El análisis de la secuencia del virus 1918 ha aportado algunos indicios que explican por qué fue tan letal y cómo se trans-

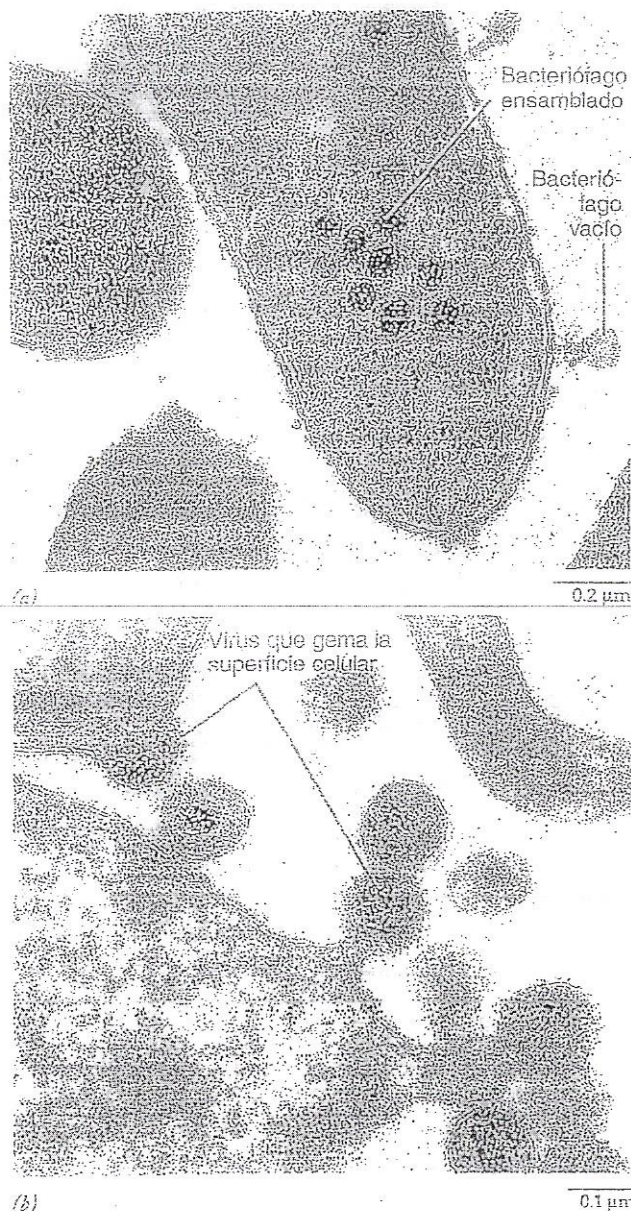
mite de manera tan eficiente de una persona a otra. Utilizando la secuencia genómica, los investigadores reconstruyeron el virus 1918 en partículas infecciosas, que fueron excepcionalmente virulentas en las pruebas de laboratorio.

Mientras que los ratones de laboratorio suelen sobrevivir a la infección por virus de la gripe humana moderna, la cepa 1918 reconstituida mató a 100% de los ratones infectados y produjo enormes cantidades de partículas virales en los pulmones de esos animales. Dado el riesgo potencial para la salud pública, el informe de la secuencia completa del virus 1918 y su reconstitución sólo se realizaron después de la aprobación por paneles de seguridad gubernamentales y la demostración de que las vacunas y los fármacos antigripales existentes protegen a los ratones contra el virus reconstituido.

Existen dos tipos básicos de infección viral. 1) En la mayor parte de los casos, los virus secuestran las actividades de síntesis normales de la célula hospedadora y las reorientan para utilizar los materiales disponibles para elaborar ácidos nucleicos virales y proteínas que forman un virión nuevo. En otras palabras, los virus no crecen como las células; se ensamblan de forma directa a partir de sus elementos para crear viriones de tamaño maduro. Por último, la célula infectada se disuelve (*lisis*) y libera una nueva generación de partículas virales capaces de infectar a las células próximas. Un ejemplo de este tipo de infección *lítica* se muestra en la figura 1-22a. 2) En otros casos, el virus infectivo no causa la muerte de la célula hospedadora, sino que en lugar de ello inserta (*integra*) su DNA al DNA cromosómico de la célula hospedadora. El DNA viral integrado se conoce como provirus. Un provirus integrado puede tener diferentes efectos que dependen de la célula hospedadora y el tipo de virus. Por ejemplo:



- Las células bacterianas que poseen un provirus funcionan con normalidad hasta que se exponen a un estímulo, como la radiación ultravioleta, que activa al DNA viral latente, lo que da lugar a la lisis celular y liberación de la progenie viral.
- Algunas células animales que contienen un provirus crean una nueva progenie viral por gemación de la superficie celular sin producir lisis de la célula infectada. El VIH actúa de esa forma; una célula infectada puede permanecer viva por un tiempo y funcionar como una fábrica para la producción de viriones nuevos (fig. 1-22b).
- Algunas células animales que poseen un provirus pierden el control de su propio crecimiento y división y experimentan una conversión a células malignas. Este fenómeno se estudia en el laboratorio con facilidad al infectar cultivos celulares con el virus tumoral apropiado.



**FIGURA 1-22 Una infección viral.** (a) Micrografía que muestra un estadio tardío en la infección de una célula bacteriana por un bacteriófago. Las partículas virales se ensamblan dentro de la célula y las cubiertas vacías del bacteriófago están presentes en la superficie celular. (b) La micrografía muestra partículas de VIH que geman a partir de un linfocito humano infectado. (A: CORTESÍA DE JONATHAN KING Y ERIKA HARTWIG; B: CORTESÍA DE HANS GELDERBLOM.)

Los virus. Los virus de plantas; puesto que las actividades de los genes *vi* se asemejan las actividades de los genes del hospedador, los investigadores han utilizado por décadas a los virus como herramienta de investigación para analizar el mecanismo de la replicación del DNA y la expresión génica en sus hospedadores, que son más complejos. De modo adicional, los virus se usan como vectores para introducir genes extraños en células humanas, una técnica que sirve como base para su aplicación en el tratamiento de las enfermedades humanas por medio de la terapéutica génica. En fecha reciente, los virus que matan a las bacterias y los insectos pueden tener una función destacada en la guerra contra las plagas por insectos y patógenos bacterianos. Los bacteriófagos se han utilizado por décadas en el tratamiento de infecciones bacterianas en Europa oriental y Rusia, mientras que los médicos de Occidente emplean los antibióticos. Debido al aumento de la resistencia bacteriana para los antibióticos, los bacteriófagos pueden marcar el regreso a este tratamiento con base en resultados prometedores realizados en ratones infectados. En la actualidad, varias compañías biotecnológicas producen bacteriófagos con miras a combatir infecciones bacterianas y proteger determinados alimentos contra la contaminación bacteriana.

### Viroides

De forma sorpresiva, en 1971 se descubrió que los virus no eran los tipos más simples de agentes infecciosos. En ese año T.O. Diener del U.S. Department of Agriculture comunicó que la enfermedad de la deformación fusiforme del tubérculo de la papa, que ocasiona que éstas se agrieten y formen nudos, se debía a un agente infeccioso formado por una molécula circular pequeña de RNA desprovista por completo de cubierta proteica. Diener denominó a este agente patógeno viroide. El tamaño del RNA de los viroides oscila entre 240 y 600 nucleótidos, la décima parte del tamaño de los virus más pequeños. No existen evidencias de que el RNA del viroide desnudo pueda codificar alguna proteína. En realidad, cualquier actividad bioquímica en la que intervienen los viroides tiene lugar al usar las proteínas de la célula hospedadora. Por ejemplo, para duplicarse dentro de una célula infectada, el RNA del viroide utiliza la polimerasa II de RNA de la célula hospedadora, una enzima que transcribe el DNA del hospedador en RNA mensajero. Se piensa que los viroides provocan enfermedad al interferir con la vía normal de la expresión génica celular. Los efectos de esta infección en las cosechas puede ser grave: una enfermedad viroide llamada cadangcadang acabó con las palmeras cocoteras en plantaciones de las islas filipinas y otro viroide causó grandes estragos a la industria de los crisantemos en Estados Unidos. El descubrimiento de un tipo diferente de agente infeccioso más simple que el viroide se describe en la sección Perspectiva humana del capítulo 2.

### REVISIÓN

1. ¿Qué propiedades distinguen a un virus de una bacteria?
2. ¿Qué tipos de infecciones son capaces de causar los virus?, ¿cómo es posible estudiar a los virus bajo el microscopio óptico?
3. Compare y analice: nucleóide y núcleo; el flagelo de una bacteria y un espermatozoide; un microorganismo arqueobacteria y una cianobacteria; la fijación de nitrógeno y la fotosíntesis; los bacteriófagos y los virus del mosaico del tabaco; un provirus y un virión.